



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, SKRINING DAN
PENGHAMBATAN KAPANG RIZOSFER TERHADAP
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici***

TESIS

RIAJENG KRISTIANA

0906576233

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, SKRINING DAN
PENGHAMBATAN KAPANG RIZOSFER TERHADAP
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici***

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains**

RIAJENG KRISTIANA

0906576233

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**

Nama : RIAJENG KRISTIANA

NPM : 0906576233

Tanda Tangan :



Tanggal : 29 Juni 2012


JUDUL : ISOLASI, IDENTIFIKASI, SKRINING DAN
PENGHAMBATAN KAPANG RIZOSFER TERHADAP
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici*

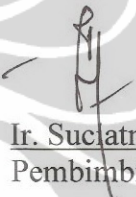
Nama : RIAJENG KRISTIANA

NPM : 0906576233


Menyetujui:


1. Komisi Pembimbing


Dr. Wibowo Manguwardoyo, M.Sc.
Pembimbing I


Ir. Suciatmih, M.Si.
Pembimbing II

2. Penguji


Dr. Nisyawati, MS.
Penguji I


Dr. Andi Salamah
Penguji II

**3. Ketua Program Studi Biologi
Program Pascasarjana FMIPA UI**



Dr. Luthfiralda Sjahfirdi, M.Biomed.

**4. Ketua Program Pascasarjana
FMIPA UI**



Dr. Adi Basukriadi, M.Sc.

Tanggal Lulus: 29 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Riajeng Kristiana
NPM : 0906576233
Program Studi : Biologi Konservasi
Judul Tesis : ISOLASI, IDENTIFIKASI, SKRINING DAN
PENGHAMBATAN KAPANG RIZOSFER
TERHADAP *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Telah berhasil saya pertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc. (.....)
Pembimbing II : Ir. Suciatmih, M.Si. (.....)
Penguji I : Dr. Nisyawati, MS. (.....)
Penguji II : Dr. Andi Salamah (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 29 Juni 2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Riajeng Kristiana
NPM : 0906576233
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

*Isolasi, Identifikasi, Skrining dan Penghambatan Kapang Rizosfer Terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici**

Beserta perangkatnya yang ada jika diperlukan. Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengolah dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Depok
Pada tanggal : 29 Juni 2012
Yang Menyatakan



(Riajeng Kristiana)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan YME karena atas berkat dan karuniaNya penulis dapat menyusun tesis ini. Tesis yang berjudul “Isolasi, identifikasi, skrining dan penghambatan kapang rizosfer terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*” ditulis untuk memenuhi syarat dalam meraih gelar Magister Sains di FMIPA, Program Studi Biologi, Program Pascasarjana, FMIPA, Universitas Indonesia, Depok.

Penulis menyadari, tidak akan tersusun tesis ini tanpa bantuan, dukungan, dan kerjasama yang baik dari berbagai pihak yang terkait baik langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dr. Wibowo Mangunwardoyo M.Sc. dan Ir. Suciatmih M.Si. yang telah memberikan kepercayaan, motivasi, arahan, bimbingan, serta dukungannya yang luar biasa selama penulis melakukan penelitian dan penyusunan tesis. Pengalaman berharga yang dirasakan dalam hidup penulis. Ucapan trimakasih penulis sampaikan pula kepada Dr. Nisyawati, MS. dan Dr. Andi Salamah atas saran, kritik, dan diskusi yang telah diberikan untuk penyempurnaan tesis.

Penulis juga berterima kasih kepada Dr. Luthfiralda Sjahfirdi, M. Biomed. dan Dr. Nisyawati, MS. sebagai Pimpinan dan Pengelola Program Studi Pascasarjana Biologi Universitas Indonesia, serta seluruh staf pengajar di Program Studi Pascasarjana Biologi, kekhususan Biologi Konservasi; dan Evi Setiawati, yang telah memberikan bantuan dan kemudahan dalam menjalankan studi.

Tak lupa penulis juga menyampaikan terima kasih kepada teman-teman Laboratorium Ekofisiologi yang telah berkenan memberi bantuan selama penulis melakukan penelitian di LIPI, keluarga Bapak Dani petani di Sukabumi yang telah mendampingi dan membantu penulis selama melakukan penelitian di lapangan.

Kedua orang tuaku dengan doa-doa mereka yang tak pernah berujung dan suamiku tercinta Andri Kusumantoro yang telah sabar dan ikhlas memberikan ketulusan doa dan kasih sayang hingga penulis dapat menjalankan penelitian dan studi dengan baik.

Sahabat-sahabat yang dengan setia mendampingi, mengajari, meluangkan waktu dan memberikan arahan, bantuan serta motivasi dalam penyelesaian tesis ini.

Semoga Tuhan YME memberikan imbalan yang layak kepada mereka semua atas kebaikan selama ini kepada penulis. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna. Penulis juga berharap agar tesis ini dapat bermanfaat dan dapat menambah wawasan serta dapat menjadi referensi penting dalam dunia konservasi khususnya, dan perkembangan Biology Science pada umumnya.



Depok, 2012

Penulis

ABSTRAK

Nama : Riajeng Kristiana
Program studi : Biologi
Judul : Isolasi, Identifikasi, Skrining dan Penghambatan Kapang Rizosfer terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Kapang rizosfer mempunyai kemampuan menghambat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans. penyebab penyakit layu pada tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Kapang rizosfer diisolasi dari daerah perakaran tanaman tomat di lahan konvensional Desa Cikahuripan dan Sukamulya, Sukabumi. Tujuh belas spesies yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* telah diidentifikasi dari 47 isolat yang diisolasi dan 2 isolat koleksi LIPI MC. Mekanisme antagonis untuk mengendalikan patogen terlihat beragam dari tiap spesies kapang rizosfer. Kompetisi dengan kapang patogen terlihat pada *Trichoderma* sp. dan *Mucor* sp. Semua isolat kapang rizosfer memproduksi agen antifungi volatil bukan HCN dan tidak dapat memproduksi enzim kitinase. Kapang rizosfer memproduksi agen antifungi non-volatil iturin yaitu *Aspergillus fumigatus* Fres., *Aspergillus niger* Van Tieghem, dan 2 isolat *Aspergillus* sp. Enzim protease diproduksi oleh *A. fumigatus*, *Aspergillus* sp., *Fusarium oxysporum* Schlecht, dan *Humicola fuscoatra* Traaen. *Aspergillus niger* dan *Penicillium* sp., merupakan kapang rizosfer yang memproduksi agen antifungi non-volatil dan volatil terhadap patogen. Baik pada suspensi konidia patogen yang disimpan 4° C dan tidak disimpan dalam lemari pendingin yang diberi agen antifungi non-volatil *Aspergillus niger* (1:1) memperlihatkan persentase hambatan pertumbuhan konidia patogen tertinggi masing-masing 77,97 % dan 76,08 % pada pengamatan jam ke-8. Agen antifungi non-volatil *Aspergillus niger* pada berbagai konsentrasi meningkatkan perkecambahan tomat masing-masing 4,17 % pada benih tomat yang diberi filtrat atau suspensi konidia patogen yang diinkubasi selama 30 menit. Sedangkan waktu inkubasi 60 menit, agen antifungi non-volatil *A. niger* pada berbagai konsentrasi meningkatkan perkecambahan tomat 5,25 %–21,04 % pada benih tomat yang diberi suspensi konidia patogen dan menurunkan perkecambahan tomat 6,38 %–13,04 % pada benih tomat yang diberi filtrat patogen. Perpanjangan waktu inkubasi 30 menit menghambat selama 4 hari kolonisasi patogen pada tomat yang diberi campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dan agen antifungi non-volatil *A. niger* pada berbagai konsentrasi. Agen antifungi volatil dari *Penicillium* sp. dapat menghambat perkecambahan konidia patogen sebesar 22,07 %.

Kata kunci : agen antifungi volatil dan non-volatil, antagonisme, *Aspergillus niger*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, HCN, iturin, kapang rizosfer, kitinase, *Penicillium* sp., protease, tanaman tomat

ABSTRACT

Name : Riajeng Kristiana
Study Program : Biology
Title : Isolation, Identification, Screening and Inhibition
Rhizosphere Mould against *Fusarium oxysporum* f.sp.
lycopersici

Rhizosphere moulds have activities to reduce the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans, the causal pathogen of wilt disease of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant. Moulds were isolated from rhizosphere of tomato plants growing in the Villages of Cikahuripan and Sukamulya, Sukabumi. Seventeen species that have antagonistic effect to *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* were identified from 47 isolates isolated from rhizosphere of tomato plant and 2 isolates of LIPI MC collection. Antagonistic mechanism for control the pathogen seemed different from each species of the rhizosphere moulds. Competition with the pathogen was produced by *Trichoderma* sp. and *Mucor* sp. All isolates of the rhizosphere moulds produced non-HCN volatile antifungal agent and did not produced chitinase enzyme. Rhizosphere moulds that produced iturin non-volatile antifungal agent were *Aspergillus fumigatus* Fres., *Aspergillus niger* Van Tieghem, and 2 isolates of *Aspergillus* sp. Protease enzyme was produced by *A. fumigatus*, *Aspergillus* sp., *Fusarium oxysporum* Schlecht, and *Humicola fuscoatra* Traaen. *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. were rhizosphere moulds that produced non-volatile and volatile antifungal agents respectively against the pathogen. Both on the suspension of the pathogen conidia stored in 4° C and unstored in refrigerator that given non-volatile antifungal agent of *A. niger* (1 : 1) showed the highest percent inhibition of the pathogen conidia respectively 77.97 % and 76.08 % in observation to-8 hours. Non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentrations increased the germination of tomato respectively at 4.17 % on tomato that given the filtrate or suspension of conidia of the pathogen at 30 minutes incubation. While in the incubation time of 60 minutes, non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentration increased the germination of tomato at 5.25 % 21.04 % on tomato that given suspension of conidia of the pathogen and decreased the germination of tomato at 6.38 % 13.04 % on tomato that given the pathogen filtrate. Extending of incubation time for 30 minutes 4 days delayed the colonization of the pathogen on tomato that given a mixture of the filtrate or the suspension of the pathogen conidia and non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentrations. The volatile antifungal agent of *Penicillium* sp. decreased the germination of conidia of the pathogen at 22.07 %.

Keywords: antagonism, *Aspergillus niger*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, HCN, iturin, kitinase, *Penicillium* sp., protease, rhizosphere mould, tomato plant, *volatile* and *non-volatile* antifungal agents

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK (ABSTRACT).....	xiii
RINGKASAN (SUMMARY).....	xv
PENGANTAR PARIPURNA.....	1
MAKALAH I : ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN SKRINING KAPANG RIZOSFER	
Abstrak	4
Pendahuluan	5
Bahan dan Cara Kerja.....	7
Hasil dan Pembahasan.....	17
Kesimpulan.....	33
Saran.....	34
Daftar Acuan.....	34
MAKALAH II: PENGHAMBATAN KAPANG RIZOSFER TERHADAP <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	
Abstrak	46
Pendahuluan	47
Bahan dan Cara Kerja.....	48
Hasil dan Pembahasan.....	56
Kesimpulan.....	66
Saran.....	66
Daftar Acuan.....	66
DISKUSI PARIPURNA.....	70
RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN	75
DAFTAR ACUAN	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
I.1. Antagonisme antara kapang rizosfer dan <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> pada médium PDA pada hari ke-10.....	21
I.2. Tingkat antagonisme antara <i>Trichoderma</i> sp. dan <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> pada medium PDA pada hari ke-10.....	23
I.3. Uji antibiosis volatil <i>F. oxysporum</i> pada medium PDA pada hari ke-5.....	24
I.4. Deteksi HCN <i>Penicillium</i> sp. pada medium PDA pada hari ke-10.....	25
I.5. Uji antibiosis non-volatil <i>Aspergillus niger</i> pada medium PDA pada hari ke-5.....	27
I.6. Deteksi iturin <i>Aspergillus</i> sp. pada medium PDA pada hari ke-3	28
I.7. Uji kitinase <i>Aspergillus niger</i> pada medium kitin.....	29
I.8. Uji protease <i>F. oxysporum</i> pada medium pendeteksi protease...	30
I.9. Mekanisme penghambatan kapang rizosfer terhadap <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	32
II.1. Konidia <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> pada pengamatan 24 jam.....	57
II.2. Akar tanaman tomat dengan dan tanpa kolonisasi dari <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	61
II.3. Penghambatan perkecambahan konidia <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> oleh agen antifungi volatil dari <i>Penicillium</i> sp.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
I.1.	Isolat kapang rizosfer yang diisolasi dari lahan pertanian konvensional.....	19
II.1.	Penghambatan konidia <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> oleh agen antifungi <i>non-volatil</i> dari <i>A. niger</i>	57
II.2.	Penghambatan kolonisasi <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> pada benih tomat oleh pemberian campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dan agen antifungi <i>non-volatil</i> dari <i>A. niger</i> yang diinkubasi 30 menit.....	59
II.3.	Penghambatan kolonisasi <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> pada benih tomat oleh pemberian campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dan agen antifungi <i>non-volatil</i> dari <i>A. niger</i> yang diinkubasi 60 menit.....	60
II.4.	Penghambatan perkecambahan benih tomat dengan campuran filtrat atau suspensi konidia <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> dan agen antifungi <i>non-volatil</i> dari <i>A. niger</i> yang diinkubasi selama 30 menit.....	62
II.5.	Penghambatan perkecambahan benih tomat dengan campuran filtrat atau suspensi konidia <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> dan agen antifungi <i>non-volatil</i> dari <i>A. niger</i> yang diinkubasi selama 60 menit.....	63
II.6.	Penghambatan perkecambahan konidia <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> oleh agen antifungi <i>volatil</i> dari <i>Penicillium</i> sp.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
I.1.	(a) <i>Arthirium</i> sp. (Teleomorf: <i>Apiospora montagnei</i> Sacc.); (b) <i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.; (c) <i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem; (d) <i>Aspergillus parasiticus</i> Speare; (e) <i>Aspergillus tamarii</i> Kita; (f) <i>Aspergillus</i> sp.; (g) <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.; (h) <i>Gongronella butleri</i> (Lendner) Peyronel & Dal Vesco; (i) <i>Humicola fuscoatra</i> Traaen; (j) <i>Mucor</i> sp.....	40
I.2.	(k) <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson; (l) <i>Paecilomyces</i> sp.; (m) <i>Penicillium</i> sp. 1; (n) <i>Penicillium</i> sp. 2; (o) <i>Penicillium</i> sp. 3; (p) <i>Talaromyces leycettanus</i> Evans & Stolk; (q) <i>Trichoderma</i> sp.....	41
I.3.	(a) Konidia <i>Arthirium</i> sp. (Teleomorf: <i>Apiospora montagnei</i> Sacc.); (b) Konidia <i>Aspergillus fumigatus</i> Fres; (c) Konidia <i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem; (d) Konidia <i>Aspergillus parasiticus</i> Speare; (e) Konidia <i>Aspergillus tamarii</i> Kita; (f) Konidia <i>Aspergillus</i> sp.; (g) Konidia <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht; (h) Konidia <i>Gongronella butleri</i> (Lendner) Peyronel & Dal Vesco (i) Konidia <i>Humicola fuscoatra</i> Traaen; (j) Konidia <i>Mucor</i> sp.....	42
I.4.	(k) Konidia <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson; (l) Konidia <i>Paecilomyces</i> sp.; (m) Konidia <i>Penicillium</i> sp. 1; (n) Konidia <i>Penicillium</i> sp. 2; (o) Konidia <i>Penicillium</i> sp. 3; (p) Konidia <i>Trichoderma</i> sp.; (q) Askospora <i>Talaromyces leycettanus</i> Evans & Stolk.....	43
I.5.	Panduan warna Castell-Polychromos No. 9216.....	44
I.6.	Skrining penghambatan kapang rizosfer terhadap <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	45

Name : Riajeng Kristiana

Date: 29 Juni 2012

Title : Isolation, Identification, Screening and Inhibition
Rhizosphere Mould against *Fusarium oxysporum* f.sp.
lycopersici

Thesis Supervisor : Dr. Wibowo Mangunwardoyo M.Sc. and Ir. Suciati M.Si.

SUMMARY

Fusarium wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans. is one of diseases that often occurs affecting tomato plants in Indonesia. The lost of production caused by pathogenic moulds on tomato plants in Indonesia reduced yield up to 25 %–50 %; and in South Florida caused a huge loss on cultivation twice in one area (Rao 1994; Taufik 2008).

One alternative to improve the quantity and quality of tomato plants, can be done by using biological agents from rhizosphere moulds collected around the roots of tomato instead of using synthetic fungicides. Plant's microorganisms activities are very high at rhizosphere of plants. Some moulds in the zone get food from the exudates released by plants, otherwise rhizosphere moulds produced and secreted bioactive materials including mycotoxins, antibiotics, enzymes, and other metabolites (Anindyawati 2003).

Rhizosphere moulds suppressed *Fusarium* wilt disease through various mechanisms, namely: (1) competition for food, oxygen, and a place for live; (2) parasitism or destruction of the cell walls of mould physically through hydrolytic enzymes (chitinase and protease) produced by the antagonistic moulds; (3) antibiosis or the inhibition of microorganism by toxic materials (non-volatile and volatile) released by the antagonistic moulds, and (4) a combination between the three mechanisms that have been mentioned (Getha & Vikineswary 2002).

This study consists of two parts. Part I is entitled: Isolation, identification, and screening of rhizosphere moulds. Part II is entitled: Inhibition of rhizosphere moulds to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

The study was carried out at the Laboratory of Microbiology Division, Research center for Biology, Indonesian Institute of Sciences, Cibinong during October 2011 – March 2012.

Isolation of moulds from rhizosphere of tomato plants collected from tomato farms in the Village Cikahuripan and Sukamulya, Sukabumi was carried out using sample dilution method (Ando *et al.* 2003). Identification of the isolates was carried out on PDA based on macroscopic and microscopic morphological observations of the colonies.

A total 94 isolates of moulds were isolated from the rhizosphere of tomato plants. Rhizosphere moulds that have been identified antagonistic isolates to *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* entirely included in the 17 species. One species of Ascomycotina, two species of two genera belong to Zygomycotina, and 14 species of 7 genera of the rhizosphere moulds included in Mitosporic moulds (Deuteromycotina).

Rhizosphere moulds isolated and identified was *Arthirium* sp. (Teleomorph: *Apiospora montagnei* Sacc.) (1 isolate), *Aspergillus fumigatus* Fres. (9 isolates), *Aspergillus niger* Van Tieghem (1 isolate of the isolation and LIPI MC collection 2 isolates), *Aspergillus parasiticus* Speare (2 isolates), *Aspergillus tamarii* Kita (1 isolate), *Aspergillus* sp. (5 isolates), *Fusarium oxysporum* Schlecht. (2 isolates), *Gongronella butleri* (Lendner) Peyronel & Dal Vesco (1 isolate), *Humicola fuscoatra* Traaen (8 isolates), *Mucor* sp. (1 isolate), *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (2 isolates), *Paecilomyces* sp. (2 isolates), *Penicillium* sp. 1 (5 isolates), *Penicillium* sp. 2 (2 isolates), *Penicillium* sp. 3 (2 isolates), *Talaromyces leycettanus* Evans & Stolk (1 isolate), and *Trichoderma* sp. (2 isolates).

Screening of the growth inhibition of *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* by rhizosphere moulds was determined by a series of tests: (1) antagonism between rhizosphere moulds and the pathogen was tested by dual plating (Skidmore & Dickinson 1976); (2) antagonism level from the antagonistic rhizosphere moulds to the pathogen was conducted by the method of Bella *et al.* (1982); (3) production of volatile antifungal agent by the antagonistic rhizosphere moulds to the pathogen was tested by the method of Dennis & Webster (1971);

(4) cyanide production by the rhizosphere moulds producing volatile antifungal agent was conducted by the method of Wei *et al.* (1991); (5) production of non-volatile antifungal agent by the antagonistic rhizosphere moulds to the pathogen was tested by the method of submerged fermentation (Judoamidjojo *et al.* 1992); (6) iturin production by the rhizosphere moulds producing non-volatile antifungal agent was tested by the method of Yuliar (2002); (7) chitinase enzyme production by the antagonistic rhizosphere moulds to the pathogen was conducted by the modified method of Hood (1991); and (8) protease enzyme detection by the antagonistic rhizosphere moulds to the pathogen was tested by the modified method of Olajuyigbe & Ajele (2005).

Aspergillus fumigatus and 1 isolate *Aspergillus* sp. inhibited the growth of *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* by producing non-HCN *volatile* antifungal agent and iturin *non-volatile* antifungal agent, and protease enzyme; *A. niger* and 1 isolate *Aspergillus* sp. inhibited growth of the pathogen by producing non-HCN *volatile* antifungal agent and iturin *non-volatile* antifungal agent; *F. oxysporum* and *H. fuscoatra* inhibited growth of the pathogen by producing non-HCN *volatile* antifungal agent and non-iturin *non-volatile* antifungal agent, and protease enzyme; *A. fumigatus* (4 isolates), *A. niger* (2 isolates), *A. parasiticus* (1 isolate), *Aspergillus* sp. (2 isolates), *G. butleri* (1 isolate), *P. lilacinus* (1 isolate), *Penicillium* sp.1 (1 isolate), *Penicillium* sp. 2 (1 isolate), *Penicillium* sp. 3 (1 isolate) inhibited growth of the pathogen by producing non-HCN *volatile* antifungal agent and non-iturin *non-volatile* antifungal agent; *Mucor* sp. and *Trichoderma* sp. inhibited growth of the pathogen in a way they can compete and producing non-HCN *volatile* antifungal agent and non-iturin *non-volatile* antifungal agent; and the other isolates inhibited the pathogen by producing non-HCN *volatile* antifungal agent.

Rhizosphere mould *A. niger* producing non-volatile antifungal agent that inhibited the growth of the pathogen highest was further tested for its activity on the inhibition of tomato seeds, conidia, and colonization of the pathogen on tomato plants. Inhibition of conidia germination of the pathogen by volatile antifungal agent using the method of Dennis & Webster (1971), while the population of the pathogen was calculated by the method of Colony Forming Unit

(CFU) (Gandjar *et al.* 1992). Inhibition of conidia germination of the pathogen by non-volatile antifungal agent using the modified method of Noveriza & Miftakhurohmah (2010), while the percentage of conidia germination of the pathogen calculated by the formula Susilo *et al.* (1993) and colonization of the pathogen in tomato using qualitative method. Rhizosphere mould *Penicillium* sp. producing volatile antifungal agent that inhibited the growth of *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* high enough was further studied for its activity on the inhibition of conidia germination of the pathogen.

Both on the suspension of the pathogen conidia in stored 4° C and unstored in refrigerator that given non-volatile antifungal agent of *A. niger* (1 : 1) showed the highest percent inhibition of the pathogen conidia respectively 77.97 % and 76.08 % in observation to-8 hours. Non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentrations increased the germination of tomato respectively at 4.17 % on tomato that given the filtrate or suspension of conidia of the pathogen at 30 minutes incubation, while in the incubation time of 60 minutes, non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentration increased the germination of tomato at 5.25 % 21.04 % on tomato that given suspension of conidia of the pathogen and decreased the germination of tomato at 6.38 % 13.04 % on tomato that given the pathogen filtrate. Extending of incubation time for 30 minutes 4 days delayed the colonization of the pathogen on tomato that given a mixture of the filtrate or the suspension of the pathogen conidia and non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentrations. The volatile antifungal agent of *Penicillium* sp. decreased the germination of conidia of the pathogen at 22.07 %.

xviii + 79 pp.; 6 appendix; 12 plates; 8 tables

Bibl.: 74 (1960—2012)

PENGANTAR PARIPURNA

Tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) merupakan tanaman pertanian yang digemari oleh masyarakat karena dapat diolah menjadi beraneka masakan, bahkan dapat pula digunakan sebagai obat dari berbagai macam penyakit, seperti liver, encok, tuberculose, gangguan pencernaan, dan jantung. Tanaman tersebut perlu dibudidayakan lebih intensif seiring dengan meningkatnya kebutuhan manusia terhadap tanaman tomat.

Salah satu kendala dalam upaya mendukung perkembangan dan peningkatan produksi tomat adalah gangguan organisme pengganggu tumbuhan (OPT) yang dapat menggagalkan panen. Penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans merupakan penyakit yang sering terjadi di antara penyakit yang menyerang tanaman tomat di Indonesia.

Sampai saat ini, penanggulangan penyakit layu fusarium menggunakan fungisida baik yang diaplikasikan pada biji maupun tanah. Tetapi, fungisida tidak efektif melawan patogen tersebut karena propagul patogen yang berdistribusi di dalam tanah seringkali di luar jangkauan bahan kimia (Campbell 1989).

Salah satu alternatif untuk meningkatkan kuantitas dan kualitas produk pertanian khususnya tomat, dapat dilakukan dengan memanfaatkan agen hayati atau biofungisida sebagai pengganti fungisida sintesis dari kapang rhizosfer. Sharma (2011) dan Sibounnavong (2012) menginformasikan bahwa penggunaan agen pengendali hayati (APH) dalam mengendalikan OPT semakin berkembang karena cara tersebut lebih unggul dibandingkan pengendalian berbasis pestisida. Beberapa keunggulan tersebut adalah: (1) aman bagi manusia, musuh alami, dan lingkungan; (2) dapat mencegah timbulnya ledakan OPT sekunder; (3) produk tanaman yang dihasilkan bebas residu pestisida; (4) terdapat di sekitar pertanaman sehingga dapat mengurangi ketergantungan petani terhadap pestisida sintesis; dan (5) menghemat biaya produksi karena aplikasi cukup dilakukan satu atau dua kali dalam satu musim panen.

Kapang rizosfer dapat menekan penyakit layu fusarium melalui berbagai mekanisme, yaitu (1) kompetisi untuk makanan, oksigen, dan tempat; (2) parasitisme atau perusakan dinding sel kapang secara fisik melalui enzim hidrolitik (kitinase, protease) yang dihasilkan kapang antagonis; (3) antibiosis atau hambatan mikroorganisme oleh bahan-bahan beracun (*volatil* dan *non-volatil*) yang dikeluarkan oleh kapang antagonis; dan (4) kombinasi antara ke tiga mekanisme yang telah disebutkan (Getha & Vikineswary 2002). Salah satu bahan beracun *non-volatil* yang dikeluarkan oleh kapang antagonis adalah senyawa iturin-A yang merupakan lipopeptida yang dapat menghambat pertumbuhan fungi (Karim *et al.* 2004), sedangkan HCN adalah salah satu bahan beracun *volatil* yang bersifat antifungi yang dikeluarkan oleh mikroorganisme (Eliza *et al.* 2007).

Sebagai langkah awal pencarian agen antifungi terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, dilakukan isolasi kapang rizosfer dari tanaman tomat di Desa Cikahuripan dan Desa Sukamulya, Sukabumi. Metode isolasi yang digunakan adalah pengenceran sampel dengan cara menyebarkan suspensi tanah hasil pengenceran bertingkat di atas permukaan agar dalam cawan petri (Ando *et al.* 2003).

Mekanisme hambatan kapang rizosfer terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ditentukan oleh serangkaian pengujian, seperti: antagonisme antara kapang rizosfer dan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diuji dengan *dual plating* (Skidmore & Dickinson 1976); penentuan kelas atau tingkat antagonisme dari kapang rizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dilakukan dengan metode Bella *et al.* (1982); produksi antifungi *volatil* kapang rizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diuji dengan metode Dennis & Webster (1971); deteksi sianida oleh kapang rizosfer penghasil agen antifungi *volatil* dilakukan dengan metode Wei *et al.* (1991); produksi agen antifungi *non-volatil* dari kapang rizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diuji dengan metode fermentasi terendam (*submerged*) (Judoamidjojo *et al.* 1992); deteksi iturin dari kapang rizosfer penghasil agen antifungi *non-volatil* menggunakan metode Yuliar (2002); produksi enzim kitinase kapang rizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diuji dengan metode Hood yang dimodifikasi (1991); dan deteksi enzim protease

kapang rhizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* menggunakan metode Olajuyigbe & Ajele yang dimodifikasi (2005).

Kapang rizosfer penghasil agen antifungi *volatil* yang dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* cukup tinggi diuji aktivitasnya lebih lanjut terhadap penghambatan perkecambahan konidia patogen; dan kapang rizosfer penghasil agen antifungi *non-volatil* yang dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tertinggi diuji aktivitasnya lebih lanjut terhadap penghambatan perkecambahan konidia dan kolonisasi kapang patogen pada tanaman tomat. Penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi *volatil* menggunakan metode Dennis & Webster (1971), sedangkan penghitungan kepadatan populasi kapang patogen dihitung dengan metode *Colony Forming Unit* (CFU) (Gandjar *et al.* 1992). Penghambatan perkecambahan konidia *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi *non-volatil* menggunakan metode Noveriza & Miftakhurohmah yang dimodifikasi (2010), sedangkan persentase perkecambahan konidia dihitung dengan rumus Susilo *et al.* (1993), dan kolonisasi partogen dalam kecambah tomat dilakukan secara kualitatif.

Penelitian terdiri atas dua bagian yang hasilnya dilaporkan dalam dua makalah, yaitu:

Makalah I : Isolasi, identifikasi, dan skrining kapang rhizosfer

Makalah II : Penghambatan kapang rizosfer terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Makalah I

ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN SKRINING KAPANG RIZOSFER

Riajeng Kristiana

ABSTRACT

Rhizosphere moulds have activities to reduce the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans., the causal pathogen of wilt disease of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant. Moulds were isolated from rhizosphere of tomato plants growing in the Villages of Cikahuripan and Sukamulya, Sukabumi. Seventeen species that have antagonistic effect to *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* were identified from 47 isolates isolated from rhizosphere of tomato plant and 2 isolates of LIPI MC collection. Screening of the inhibition growth to *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* of the isolates proved that *Aspergillus fumigatus* Fres. and 1 isolate *Aspergillus* sp. inhibited the growth of *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* by producing non-HCN *volatile* antifungal agent and iturin *non-volatile* antifungal agent, and producing protease; *Aspergillus niger* Van Tieghem and 1 isolate *Aspergillus* sp. inhibited growth of the pathogen by producing non-HCN *volatile* antifungal agent and iturin *non-volatile* antifungal agent; *Fusarium oxysporum* Schlecht. and *Humicola fuscoatra* Traaen inhibited growth of the pathogen by producing non-HCN *volatile* antifungal agent and non-iturin *non-volatile* antifungal agent, and producing protease; *A. fumigatus* (4 isolates), *A. niger* (2 isolates), *Aspergillus parasiticus* Speare (1 isolate), *Aspergillus* sp. (2 isolates), *Gongronella butleri*(Lendner) Peyronel & Dal Vesco (1 isolate), *Paecilomyces lilacinus*(Thom) Samson (1 isolate), *Penicillium* sp. 1 (1 isolate), *Penicillium* sp. 2 (1 isolate), *Penicillium* sp. 3 (1 isolate) inhibited growth of the pathogen by producing non- HCN *volatile* antifungal agent and non-iturin *non-volatile* antifungal agent; *Mucor* sp. and *Trichoderma* sp. inhibited growth of the pathogen in a way they can compete and producing non-HCN *volatile* antifungal agent and non-iturin *non-volatile* antifungal agent; and the other isolates inhibited the pathogen by producing non-HCN *volatile* antifungal agent.

Key words: antagonism, competition, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, HCN, iturin, kitinase, rhizosphere mould, protease, tomato plant, *volatile* and *non-volatile* antifungal agents

PENDAHULUAN

Tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) merupakan tanaman pertanian yang digemari oleh masyarakat. Tanaman tersebut perlu dibudidayakan dengan lebih intensif seiring dengan meningkatnya kebutuhan manusia terhadap tanaman tomat. Salah satu kendala dalam upaya mendukung perkembangan dan peningkatan produksi tomat adalah gangguan organisme pengganggu tumbuhan (OPT) yang dapat menggagalkan panen (Rao 1994).

Penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans. merupakan penyakit yang sering terjadi di antara penyakit menyerang tanaman tomat di Indonesia.

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* dapat menginfeksi akar tanaman tomat dan menyebabkan tanaman menjadi layu, tulang daun terutama daun bagian atas menjadi pucat, kemudian tangkai merunduk, dan daunnya menguning bahkan menyebabkan tanaman tomat muda mengalami kematian (Joesi & Novizan 2003). Taufik (2008) menginformasikan bahwa intensitas serangan *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* pada tanaman tomat dapat mencapai 25% - 50%. Pengendalian penyakit layu fusarium cukup sulit karena kapang patogen dapat bertahan sangat lama di dalam tanah tanpa adanya tanaman inang, sehingga rotasi tanaman menjadi tidak efektif (Alabouvette *et al.* 1996).

Sampai saat ini, penanggulangan penyakit layu fusarium menggunakan fungisida baik yang diaplikasikan pada biji maupun tanah. Tetapi, fungisida tidak efektif melawan patogen tanah tersebut karena propagul patogen yang berdistribusi di dalam tanah seringkali di luar jangkauan bahan kimia (Campbell 1989). Selain itu, penggunaan fungisida dapat menyebabkan terbunuhnya mikroorganisme bukan sasaran, timbulnya strain OPT yang resisten terhadap fungisida, dan membahayakan kesehatan serta lingkungan.

Salah satu alternatif untuk meningkatkan kuantitas dan kualitas produk pertanian khususnya tomat, dapat dilakukan dengan memanfaatkan agen hayati atau biofungisida sebagai pengganti fungisida sintetis dari kapang rizosfer yang di koleksi di sekitar perakaran tomat. Mikroorganisme tanah melakukan aktivitas

sangat tinggi di area rizosfer tanaman. Beberapa kapang di zona tersebut mendapatkan makanan dari eksudat yang dikeluarkan oleh tanaman, sebaliknya kapang rizosfer dapat menghasilkan dan mensekresikan bahan bioaktif termasuk mikotoksin, antibiotik, enzim, dan metabolit lainnya (Anindyawati 2003).

Beberapa kapang rizosfer telah dilaporkan sebagai antagonis yang potensial. *Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium* sp., dan *Trichoderma harzianum* dapat meningkatkan secara nyata tinggi tanaman, berat kering dan basah tanaman tomat, kandungan klorofil serta perkecambahan biji tomat, dan dapat menekan penyakit layu fusarium sebesar 24,45% sampai 44,4% (Alwathnani & Perveen 2012); *T. harzianum* (Th 650) dapat menurunkan kerusakan akar tomat yang diinfeksi oleh *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sebesar 79% pada tanaman tomat yang ditumbuhkan secara hidroponik dalam medium *coir*; dan 73% dalam medium *rockwool*; serta dapat meningkatkan hasil buah 37% dalam medium *coir* dan 25% dalam medium *rockwool* (Ozbay *et al.* 2004); dan *Penicillium* sp. EU0013 dapat menurunkan penyakit layu fusarium pada tanaman tomat sebesar 78% (Alam *et al.* 2010).

Kapang rizosfer dapat menekan penyakit layu fusarium melalui berbagai mekanisme, yaitu: (1) kompetisi untuk makanan, oksigen, dan tempat hidup; (2) parasitisme atau perusakan dinding sel kapang secara fisik melalui enzim hidrolitik (kitinase dan protease) yang dihasilkan kapang antagonis; (3) antibiosis atau hambatan mikroorganisme oleh bahan-bahan beracun (*volatil* dan *non-volatil*) yang dikeluarkan oleh kapang antagonis; dan (4) kombinasi antar ketiga mekanisme yang telah disebutkan (Getha & Vikineswary 2002). Salah satu bahan beracun *non-volatil* yang dikeluarkan oleh kapang antagonis adalah senyawa iturin-A merupakan lipopeptida yang dapat menghambat pertumbuhan fungi (Karim *et al.* 2004), sedangkan HCN adalah salah satu bahan beracun *volatil* bersifat antifungi dikeluarkan oleh mikroorganisme (Eliza *et al.* 2007).

Tujuan penelitian adalah mengisolasi kapang rizosfer tanaman tomat pada lahan pertanian konvensional yang akan diuji antifunginya terhadap *F.oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2011 sampai dengan bulan Januari 2012 di Laboratorium Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong.

BAHAN

Tanah

Sampel tanah diperoleh dari lahan pertanian tanaman tomat di Desa Cikahuripan dan Desa Sukamulya, Sukabumi.

Kapang

Kapang diuji potensinya menghasilkan agen antifungi adalah kapang rizosfer diisolasi dari tanaman tomat dan isolat kapang rhizosfer koleksi LIPI MC. Kapang uji *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diperoleh dari Laboratorium Klinik Penyakit UGM.

Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah Agar (Oxoid), asam pikrat (Merck), CaCO_3 (Merck), D-glukosa (Merck), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), *glass wool* (Merck), HCl (Merck), kitin (Merck), kloramfenikol (Merck), KH_2PO_4 (Merck), K_2HPO_4 (Merck), laktofenol (Merck), laktofenol biru (Merck), $\text{MgSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck), MnCl_2 (Merck), NaOH (Merck), Na_2CO_3 (Oxoid), *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Oxoid), *Potato Dextrose Broth* (PDB) (Oxoid), susu skim, *Yeast Extract* (Oxoid), dan ZnSO_4 (Merck).

ALAT

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi: autoklaf (Hirayana), *cello tipe* (PVC), *cork borer*, *cover glass*, inkubator (Memert), jangka sorong, kertas saring Whatman No. 1, kamera digital, *laminar air flow cabinet* (Holten), mikropipet (Eppendorf), mikroskop (Olympus), objek gelas, oven listrik (Memert), sentrifuse (Kubota), *shaker incubator* (Certomat HK), timbangan digital (Ohaus), dan vorteks (Fisher scientific).

CARA KERJA

Medium isolasi

Potato Dextrose Agar (PDA)

Masing-masing Erlemeyer 300 ml diisi 9,75 g bubuk PDA dan 250 ml akuades kemudian dipanaskan sampai larut sempurna. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121⁰ C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Selanjutnya medium dituang ke dalam cawan petri diameter 12 cm dan dibiarkan mengeras.

Medium peremajaan dan pemeliharaan

Potato Dextrose Agar (PDA)

Masing-masing Erlemeyer 300 ml diisi 9,75 g bubuk PDA dan 250 ml akuades kemudian dipanaskan sampai larut sempurna. Sebagian medium dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 5 ml. Medium kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121⁰ C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Selanjutnya medium dituang ke dalam cawan petri diameter 5 cm; medium dalam tabung reaksi dimiringkan dan dibiarkan mengeras.

Medium pengujian

Potato Dextrose Agar (PDA)

Masing-masing Erlemeyer 300 ml diisi 9,75 g bubuk PDA dan 250 ml akuades kemudian dipanaskan sampai larut sempurna. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121⁰ C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Selanjutnya medium dituang ke dalam cawan petri diameter 9 cm dan 5 cm kemudian dibiarkan mengeras.

Medium fermentasi

Masing-masing botol jam 250 ml diisi 0,48 g bubuk PDB, 0,04 g *Yeast Extract*, 0,1 g CaCO₃, dan akuades 20 ml kemudian medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Syarmalina *et al.* 2003).

Medium kitin

Koloidal kitin dibuat dengan melarutkan 20 g kitin dengan 400 ml HCl pekat dan diinkubasi selama satu malam pada suhu 4⁰ C. Campuran disaring dengan menggunakan *glass wool* dan filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan sedikit akuades dingin dan NaOH 10 N secara bertahap hingga volumenya menjadi 500 ml dan pH 7 dan selanjutnya disentrifuse dengan kecepatan 7000 rpm selama 10 menit. Endapan kemudian diambil dan dibilas dengan akuades dan selanjutnya disentrifuse lagi dengan kecepatan 7000 rpm selama 10 menit.

Media kitin dibuat dengan cara melarutkan 0,7 g K₂HPO₄, 0,3 g KH₂PO₄, 0,5 g MgSO₄.5H₂O, 0,01 g FeSO₄.7H₂O, 0,001 g ZnSO₄, 0,001 g MnCl₂, 8 g koloidal kitin, dan 22 g agar ke dalam 1000 ml akuades dengan menggunakan pengaduk magnet dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

Medium protease

Sebanyak 10 g susu skim dalam 1000 ml akuades dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih, kemudian dicampur dengan 1 g D-glukosa, 2,5 g *Yeast Extract*, dan 20 g agar sampai homogen dan selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

Pengambilan sampel tanah

Sampel tanah diambil di daerah rizosfer pada kedalaman 10–15 cm pada tanaman tomat di lahan pertanian baru dibuka untuk ditanami tomat dan yang sudah 15 tahun ditanami tomat. Setiap lahan diambil 15 titik sampling secara acak dengan total tanah 1000 g. Sampel tanah kemudian dicampur menjadi satu dan dikeringanginkan pada suhu 27^o–29^o C selama 3–5 hari. Sampel tanah yang sudah kering dihaluskan dan disaring dengan penyaring tepung untuk menghomogenkan dan memisahkan pengotor berukuran besar (Osmond *et al.* 1997).

Isolasi Kapang

Isolasi kapang tanah dilakukan dengan metode pengenceran sampel (Ando *et al.* 2003). Sebanyak 10 g sampel tanah disuspensikan dalam 90 ml akuades steril (10^{-1}) dan *dishaker* selama 30 menit. Selanjutnya dibuat pengenceran dengan cara memipet sebanyak 1 ml ke dalam tabung berisi 9 ml akuades steril (10^{-2}) dan kemudian *dishaker*. Demikian seterusnya hingga kelipatan pengenceran (10^{-5}). Kemudian pengenceran (10^{-3}) sampai (10^{-5}) digunakan untuk mengisolasi kapang. Sebanyak 0,2 ml suspensi tanah dari masing-masing pengenceran disebarkan dengan batang kaca bengkok diatas media PDA dengan volume 15 ml yang telah diberi antibiotik kloramfenikol 200 mg/L. Biakan selanjutnya diinkubasi selama tiga hari pada suhu 27^o–29^o C. Masing-masing

perlakuan diulang 3 kali. Koloni tunggal pada masing-masing cawan petri diambil dan ditransfer ke media PDA dan diinkubasi selama 1–4 minggu.

Identifikasi kapang

Isolat tunggal dari kapang kemudian diidentifikasi secara morfologi meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis dengan mengacu pada buku panduan dari (Barnett 1995 & Gandjar *et al.* 1999) meliputi: (1) pemeriksaan warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin, ada atau tidak adanya tetes-tetes eksudat), (2) ada atau tidak adanya garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni, dan (3) ada atau tidak adanya lingkaran konsentris. Pengamatan mikroskopis kapang meliputi: (1) ada atau tidak adanya septum pada hifa, (2) pigmentasi hifa (tidak berwarna atau berwarna gelap), (3) bentuk hifa (seperti spiral, bernodul atau mempunyai rhizoid), dan (4) ukuran, warna, ornamen, serta bentuk spora atau konidia.

Skrining aktivitas agen antifungi awal

Penentuan antagonisme dengan metode *dual plating* (Skidmore & Dickinson 1976), dilakukan pada skrining agen antifungi awal terhadap kapang patogen *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dari isolat kapang rizosfer. Isolat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan kapang rizosfer yang ditumbuhkan pada medium PDA di dalam cawan petri dan diinkubasi selama 5–7 hari pada suhu 27°–29° C, dicetak dengan *cork borer* diameter 1 cm. Satu potong cetakan miselium *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* kemudian diletakkan berdampingan dengan satu potong cetakan miselium kapang rizosfer dengan jarak 3 cm. Sebagai kontrol, kapang *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ditumbuhkan pada medium PDA yang tidak diinokulasi dengan kapang rizosfer. Setiap perlakuan dilakukan 3 ulangan. Diameter patogen diukur pada hari ke-5 setelah inokulasi, dan persentase hambatan pertumbuhannya dihitung berdasarkan rumus Skidmore & Dickinson (1976).

Tingkat antagonisme

Penentuan kelas atau tingkat antagonisme dari kapang yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dilakukan dengan metode Bella *et al.* 1982. Isolat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan kapang rizosfer ditumbuhkan pada medium PDA di dalam cawan petri dan diinkubasi selama 5 -7 hari pada suhu 27°–29° C, dicetak dengan *cork borer* diameter 1 cm. Satu potong cetakan miselium *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* kemudian diletakkan berdampingan dengan satu potong cetakan miselium kapang rizosfer dengan jarak 3 cm. Setiap perlakuan dilakukan 3 ulangan. Tingkat antagonisme ditentukan pada interval waktu dari hari ke-5 sampai hari ke-9. Ada lima tingkatan atau kelas antagonisme yaitu:

- Kelas 1 = kapang rizosper tumbuh cepat dan menutupi seluruh permukaan medium.
- Kelas 2 = kapang rizosper menutupi paling sedikit 2/3 permukaan medium.
- Kelas 3 = kapang rizosper dan patogen menutupi 1/2 permukaan medium.
- Kelas 4 = kapang patogen menutupi paling sedikit 2/3 medium.
- Kelas 5 = kapang patogen tumbuh cepat dan menutupi seluruh permukaan medium.

Uji antibiosis (produksi agen antifungi)

Volatil

Masing-masing kapang rizosfer ditumbuhkan di bagian tengah dari medium PDA, ditutup rapat dengan *cello-tipe*, dimasukkan dalam kantong plastik, dan diinkubasi dalam suhu 27°–29° C. Setelah 5 hari, patogen *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diinokulasikan pada medium PDA baru; dan tutup cawan petri dari medium yang diinokulasi dengan masing-masing kapang rizosfer

digantikan dengan kultur patogen pada medium PDA. Cawan petri dirapatkan dengan *cello-tipe* dan diinkubasi selama 5 hari. Perlakuan kontrol terdiri dari cawan petri berisi patogen yang diletakkan terbalik menutupi cawan petri yang hanya berisi medium PDA (Dennis & Webster 1971). Setiap perlakuan dilakukan 3 ulangan. Persentase hambatan pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh kapang rizosfer dihitung berdasarkan rumus yang dikemukakan oleh Skidmore & Dickinson (1976).

Deteksi sianida (HCN)

Produksi sianida oleh kapang rizosfer penghasil agen antifungi *volatil* diuji dengan menggunakan metode Wei *et al.* (1991). Produksi sianida dideteksi menggunakan larutan *Cyanide Detection Solution* (CDS). Masing-masing kapang rizosfer ditumbuhkan di bagian tengah dari medium PDA, ditutup rapat dengan *cello-tipe*, dimasukkan dalam kantong plastik, dan diinkubasi dalam suhu 27°–29° C. Setelah 5 hari, tutup cawan petri dari medium yang diinokulasi dengan masing-masing kapang rizosfer digantikan dengan cawan petri sudah diberi kertas saring (1 x 1 cm) yang sudah dicelupkan dalam larutan CDS. Cawan petri dirapatkan dengan *cello-tipe* dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 27°–29° C. Perlakuan kontrol terdiri dari cawan petri berisi kertas saring sudah dicelupkan dengan larutan CDS dan diletakkan terbalik menutupi cawan petri hanya berisi medium PDA. Setiap perlakuan dilakukan 3 ulangan. Kapang rizosfer yang dapat memproduksi sianida dideteksi dengan adanya perubahan warna pada kertas saring dari kuning menjadi orange kecoklatan.

Non-volatil

Pembuatan inokulum

Sebanyak 3 ml akuades steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang masing-masing berisi kapang pembentuk konidia berumur 7 hari. Biakan kapang

kemudian dikerik perlahan dengan menggunakan jarum tanam untuk memperoleh suspensi konidia.

Inokulasi kapang

Sebanyak 0,2 ml (1 %) suspensi konidia kapang rizosfer ($13 - 21 \times 10^3$ CFU/ml) ditambahkan ke dalam botol jam 250 ml yang masing-masing berisi 20 ml medium fermentasi. Biakan diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu $27^{\circ}-29^{\circ}$ C dan kecepatan agitasi 90 rpm selama 5 hari (Suciatmih 2008).

Pemanenan filtrat

Filtrat dipanen dengan cara memisahkan biomassa sel dengan sentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit. Filtrat disaring dengan kertas saring Whatman No 1 dan disimpan pada suhu 4° C (Suciatmih 2008). Filtrat digunakan sebagai *crude antifungal agent* untuk pengujian toksisitas.

Uji toksisitas

Sebanyak 10 ml medium PDA di dalam tabung reaksi (50° C) dituang ke dalam cawan petri. Setelah medium PDA mengeras, satu potong cetakan (diameter 1 cm) miselium *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang berumur 7 hari diletakkan di tengah medium tersebut. Biakan kapang tersebut kemudian diinkubasi pada suhu $27^{\circ}-29^{\circ}$ C selama 3 hari. Selanjutnya dibuat 4 lubang dengan *cork borer* (diameter 1 cm) pada tepi cawan petri. Masing-masing lubang dari satu cawan petri diberi 75 μ l filtrat hasil fermentasi kapang rizosfer. Sebagai kontrol, masing-masing lubang dari satu cawan petri diberi 75 μ l akuades steril. Biakan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* kemudian diinkubasi pada suhu $27^{\circ}-29^{\circ}$ C selama 5 hari. Setiap perlakuan dilakukan 3 ulangan. Persentase hambatan pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh filtrat kapang rizosfer dihitung berdasarkan rumus yang dikemukakan oleh Skidmore & Dickinson (1976).

Deteksi iturin

Sebanyak 3 ml akuades steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* berumur 7 hari. Biakan kapang kemudian dikerik perlahan dengan menggunakan jarum tanam untuk memperoleh suspensi konidia dan divorteks agar homogen. Sebanyak 50 µl suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ditambahkan pada 10 ml medium PDA di dalam tabung reaksi (50° C) divorteks dan dituangkan ke dalam cawan petri diameter 10 cm. Setelah medium mengeras, 300 µl filtrat hasil fermentasi isolat kapang rizosfer dipipet kedalam 4 lubang masing-masing dengan diameter 1 cm yang berada di medium dan diinkubasi pada suhu 27°–29° C selama 1–2 hari. Perlakuan kontrol, filtrat hasil fermentasi kapang rizosfer diganti dengan 300 µl akuades steril. Setiap perlakuan dilakukan 3 ulangan. Kapang penghasil iturin dicirikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar filtrat kapang rizosfer yang diuji (Yuliar 2002).

Uji enzimatis

Enzim kitinase

Medium kitin agar steril di dalam cawan petri diinokulasi dengan 50 µl filtrat hasil fermentasi kapang rizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan diinkubasi pada suhu 27°–29° C selama 2-3 hari. Kapang penghasil kitinase dicirikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar filtrat kapang rizosfer (Hood 1991 yang dimodifikasi).

Enzim protease

Medium pendeteksi protease steril di dalam cawan petri diinokulasi dengan 50 µl filtrat hasil fermentasi kapang rizosfer yang antagonis terhadap

F. oxysporum f.sp. *lycopersici* dan diinkubasi pada suhu 27°–29° C selama 2-3 hari. Kapang penghasil protease dicirikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar filtrat kapang rizosfer (Olajuyigbe & Ajele 2005 yang dimodifikasi).

ANALISIS DATA

Penentuan antagonis dilihat dari pertumbuhan kapang rizosfer dengan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang menunjukkan penghambatan di antara kedua kapang.

Kapang rizosfer yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; atau bersifat antagonis terhadap kapang patogen tersebut, akan diuji lebih lanjut tingkat antagonismenya terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; penentuan antibiosis (produksi agen biokontrol) *volatil* (HCN) dan *non-volatil* (iturin) dan penentuan enzimatis (kitinase dan protease).

Persentase hambatan pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dihitung berdasarkan rumus Skidmore & Dickinson (1976):

$$PI = \frac{(C - T) \times 100}{C}$$

PI = persen hambatan pertumbuhan miselium (%)

C = diameter miselium patogen pada cawan petri kontrol (cm)

T = diameter miselium patogen pada cawan petri perlakuan (cm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi kapang rizosfer

Sebanyak 94 isolat kapang rizosfer diisolasi dari lahan pertanian konvensional tanaman tomat pada 2 desa, yaitu: Desa Cikahuripan dan Desa Sukamulya, Sukabumi. Lahan pertanian tanaman tomat di Desa Cikahuripan, merupakan lahan yang sudah 15 tahun ditanami tanaman tomat dengan sistem konvensional. Pada lahan tersebut dapat diisolasi 43 isolat kapang rizosfer dan 26 isolat di antaranya bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* serta telah diidentifikasi termasuk ke dalam 8 spesies, yaitu: *Aspergillus fumigatus* Fres. (7 isolat), *Aspergillus niger* Van Tieghem (1 isolat), *Aspergillus tamarii* Kita (1 isolat), *Aspergillus* sp. (3 isolat), *Fusarium oxysporum* Schlecht. (1 isolat), *Humicola fuscoatra* Traaen (7 isolat), *Penicillium* sp. 1 (4 isolat), *Penicillium* sp. 2 (2 isolat). *Aspergillus fumigatus* dan *H. fuscoatra* mendominasi kapang rizosfer di Desa Cikahuripan. Lahan pertanian tanaman tomat di Desa Sukamulya merupakan lahan pertanian yang baru dibuka 8 bulan dan sebelumnya merupakan lahan yang ditumbuhi semak belukar. Pada lahan tersebut dapat diisolasi 51 isolat kapang rizosfer dan 21 isolat di antaranya bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* serta telah diidentifikasi termasuk ke dalam 14 spesies, yaitu: *Arthirium* sp. (Teleomorf: *Apiospora montagnei* Sacc.) (1 isolat), *A. fumigatus* (2 isolat), *Aspergillus parasiticus* Speare (2 isolat), *Aspergillus* sp. (2 isolat), *F. oxysporum* (1 isolat), *Gongronella butleri* (Lendner) Peyronel & Dal Vesco (1 isolat), *H. fuscoatra* (1 isolat), *Mucor* sp. (1 isolat), *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (2 isolat), *Paecilomyces* sp. (2 isolat), *Penicillium* sp. 1 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (2 isolat), *Talaromyces leycettanus* Evans & Stolk (1 isolat), dan *Trichoderma* sp. (2 isolat). Pada lahan tersebut tidak ada kapang rizosfer yang mendominasi (Tabel 1.1).

Kedua lahan pertanian tersebut memiliki perbedaan keragaman kapang rizosfer. Lahan di Desa Cikahuripan, spesies yang didapatkan lebih sedikit dibandingkan dengan spesies yang didapatkan di desa Sukamulya. Hal tersebut

kemungkinannya disebabkan oleh pestisida dan pupuk yang digunakan secara terus menerus selama 15 tahun dapat membunuh mikroorganisme yang terdapat pada lahan tersebut. Seperti yang dikemukakan Nasahi (2010), penggunaan pestisida dapat mengurangi keanekaragaman organisme tanah. Kapang rizosfer yang masih dapat bertahan hanyalah kapang yang memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi atau kapang yang sudah mengalami koevolusi.

Kapang rizosfer yang telah diidentifikasi adalah isolat bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* seluruhnya termasuk dalam 17 spesies. Satu spesies kapang rizosfer termasuk dalam Ascomycotina, 2 spesies kapang rizosfer dari dua genera termasuk dalam Zygomycotina dan 14 spesies kapang rizosfer dari 7 genera termasuk dalam *Mitosporic Moulds* (Deuteromycotina).

Kapang rizosfer yang diisolasi dan telah diidentifikasi sebanyak 49 isolat yaitu *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*) (1 isolat), *A. fumigatus* (9 isolat), *A. niger* (1 isolat hasil isolasi dan 2 isolat koleksi LIPI MC), *A. parasiticus* (2 isolat), *A. tamarii* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (5 isolat), *F. oxysporum* (2 isolat), *G. butleri* (1 isolat), *H. fuscoatra* (8 isolat), *Mucor* sp. (1 isolat), *P. lilacinus* (2 isolat), *Paecilomyces* sp. (2 isolat), *Penicillium* sp. 1 (5 isolat), *Penicillium* sp. 2 (2 isolat), *Penicillium* sp. 3 (2 isolat), *T. leycettanus* (1 isolat), dan *Trichoderma* sp. (2 isolat) (Lampiran I.1, I.2, I.3 & I.4). *Talaromyces* merupakan genera kapang dari Ascomycotina; *Arthirium* sp. (Teleomorf : *A. montagnei*), *Aspergillus*, *Fusarium*, *Humicola*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* merupakan genera kapang dari *Mitosporic Moulds*; serta *Gongronella* dan *Mucor* merupakan genera kapang dari Zygomycotina. *Aspergillus* merupakan genera kapang yang banyak ditemukan, yaitu 5 spesies.

Tabel I.1. Isolat kapang rizosfer yang diisolasi dari lahan pertanian konvensional

Lahan Desa Cikahuripan			Lahan Desa Sukamulya		
1	I1.10-2.8		1	II1.10-1.1	<i>A. fumigatus</i>
2	I1.10-3.1	<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen	2	II1.10-1.2	
3	I1.10-3.2	<i>H. fuscoatra</i>	3	II1.10-1.3	<i>Trichoderma</i> sp.
4	I1.10-3.3	<i>Aspergillus</i> sp.	4	II1.10-2.1	
5	I1.10-3.4	<i>Penicillium</i> sp. 1	5	II1.10-2.2	
6	I1.10-3.5	<i>H. fuscoatra</i>	6	II1.10-2.3	<i>Mucor</i> sp.
7	I1.10-3.6		7	II1.10-3.1	<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson
8	I1.10-3.7	<i>H. fuscoatra</i>	8	II1.10-3.2	<i>Trichoderma</i> sp.
9	I1.10-3.8		9	II1.10-3.3	<i>Paecilomyces</i> sp.
10	I1.10-3.9	<i>H. fuscoatra</i>	10	II1.10-3.4	<i>Aspergillus parasiticus</i> Speare
11	I1.10-3.11	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.	11	II1.10-3.5	
12	I1.10-3.12	<i>A. fumigates</i>	12	II1.10-3.6	
13	I1.10-3.13	<i>A. fumigates</i>	13	II1.10-3.7	
14	I1.10-3.14	<i>A. fumigates</i>	14	II1.10-3.8	
15	I1.10-3.15	<i>Aspergillus</i> sp.	15	II1.10-3.9	<i>Aspergillus</i> sp.
16	I1.10-3.19		16	II1.10-3.10	
17	I1.10-3.20		17	II1.10-3.11	
18	I1.10-3.21		18	II1.10-3.12	
19	I1.10-3.22	<i>Penicillium</i> sp. 1	19	II1.10-4.1	<i>A. fumigatus</i>
20	I1.10-4.1	<i>Aspergillus</i> sp.	20	II2.10-1.2	
21	I1.10-4.2	<i>A. fumigates</i>	21	II2.10-1.3	
22	I1.10-5.1	<i>H. fuscoatra</i>	22	II2.10-1.4	
23	I2.10-1.1		23	II2.10-1.5	
24	I2.10-1.2		24	II2.10-1.6	
25	I2.10-3.1	<i>H. fuscoatra</i>	25	II2.10-1.7	
26	I2.10-2.3		26	II2.10-1.8	
27	I2.10-2.4		27	II2.10-1.9	
28	I2.10-3.5	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	28	II2.10-2.1	
29	I2.10-3.6		29	II2.10-2.2	<i>A. parasiticus</i>
30	I2.10-3.7	<i>Penicillium</i> sp. 1	30	II2.10-3.1	
31	I2.10-3.8	<i>Penicillium</i> sp. 1	31	II2.10-3.2	<i>Gongronella butleri</i> (Lendner) Peyronel & Dal Vesto
32	I2.10-3.9	<i>A. fumigates</i>	32	II2.10-3.3	<i>P. lilacinus</i>
33	I2.10-3.11		33	II2.10-3.4	
34	I2.10-3.14		34	II2.10-3.5	
35	I2.10-4.1	<i>A. fumigates</i>	35	II2.10-3.6	
36	I3.10-1.1	<i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem	36	II2.10-3.7	<i>Penicillium</i> sp. 3
37	I3.10-1.2	<i>Aspergillus tamaris</i> Kita	37	II2.10-3.8	<i>F. oxysporum</i>
38	I3.10-3.2		38	II2.10-3.9	
39	I3.10-3.3		39	II2.10-3.10	<i>Talaromyces leycettanus</i> Evans & Stolk
40	I3.10-3.4	<i>Penicillium</i> sp. 2	40	II2.10-3.11	<i>Arthirium</i> sp. (Teleomorf: <i>Apiospora montagnei</i>)
41	I3.10-3.5		41	II3.10-1.1	
42	I3.10-3.6	<i>Penicillium</i> sp. 2	42	II3.10-1.2	
43	I3.10-3.7		43	II3.10-3.1	<i>Penicillium</i> sp. 1
			44	II3.10-3.2	<i>Paecilomyces</i> sp.
			45	II3.10-3.3	<i>Penicillium</i> sp. 3
			46	II3.10-3.4	
			47	II3.10-3.5	
			48	II3.10-3.6	
			49	II3.10-3.9	
			50	II3.10-4.1	<i>H. fuscoatra</i>
			51	II3.10-4.2	<i>Aspergillus</i> sp.

Kapang rizosfer, seperti *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*), *Aspergillus*, *Fusarium*, *Gongronella*, *Humicola*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* adalah umum dan telah banyak dilaporkan ditemukan pada lahan pertanian pertanaman sayuran dan buah-buahan (Domsch *et al.* 1980; Ito *et al.* 1999; Ito *et al.* 2001; Suciatmih 2006; Zahara & Hartati 2007; Lubis & Lubis 2008). *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*) dan *T. leycettanus* merupakan koleksi kapang baru dari rizosfer tanaman tomat bagi LIPI MC.

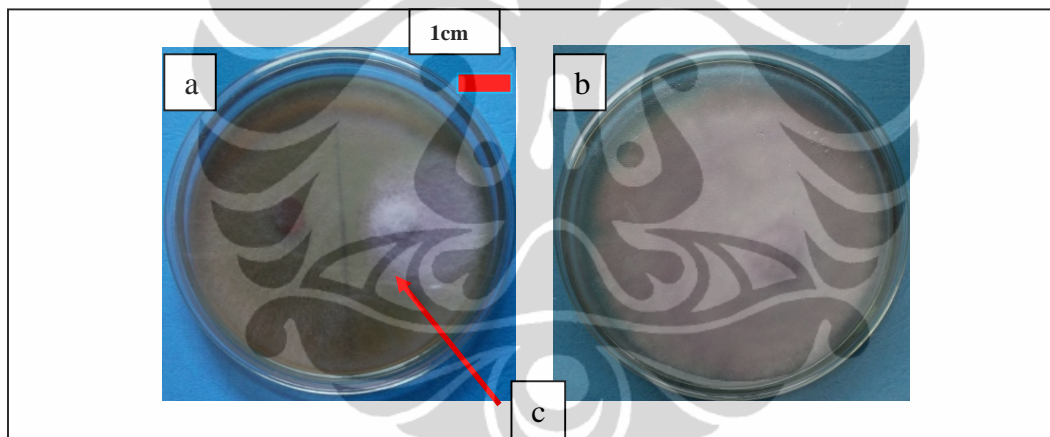
Kapang rizosfer yang diisolasi dari lahan pertanian konvensional tanaman tomat didominasi oleh Deuteromycotina diikuti Zygomycotina dan Ascomycotina. Kapang rizosfer yang tergolong dalam Basidiomycotina tidak terisolasi dalam penelitian. Medium yang digunakan dalam penelitian mungkin tidak spesifik dan tidak cocok untuk pertumbuhan kapang yang memerlukan faktor pertumbuhan tertentu. Untuk mengisolasi kapang Basidiomycotina dari tanah diperlukan vitamin dan media tertentu. Medium khusus mempunyai komposisi yang khusus sesuai dengan fungi yang akan diisolasi. Sebagai contoh, untuk mengisolasi fungi xerofilik dari lingkungan sangat kering, seperti spesies *Eurotium herbariorum*, *Wallemia sebi* diperlukan medium Dichloran 18% Glycerol (DG18) (Samson *et al.* 1992).

Skrining penghambatan kapang rizosfer terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Skrining penghambatan kapang rizosfer menggunakan serangkaian pengujian meliputi: antagonisme, tingkat antagonisme, antibiosis (*volatil* dan *non-volatil*), dan enzimatis.

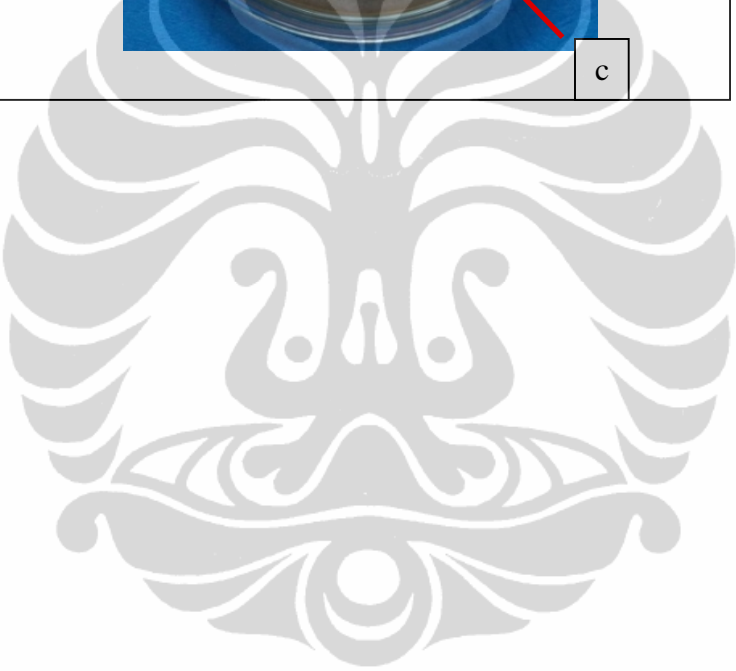
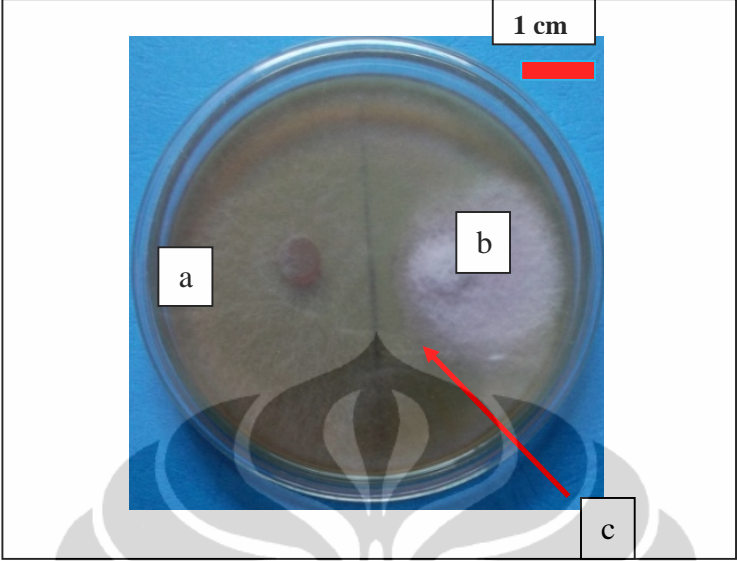
a. Uji antagonisme

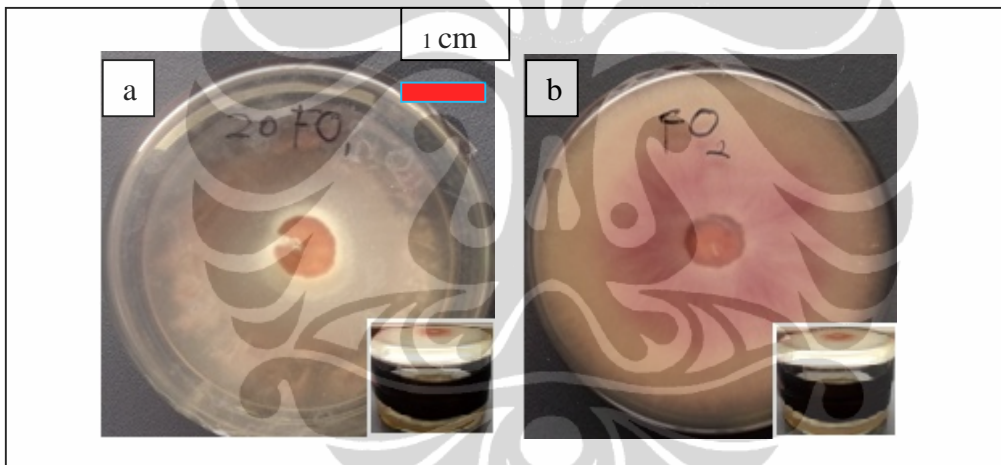
Hasil evaluasi antagonisme memperlihatkan bahwa hanya 49 isolat (51,04 %) dari 96 (94 isolat hasil isolasi dan 2 isolat koleksi LIPI MC) kapang rizosfer yang diuji, bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan

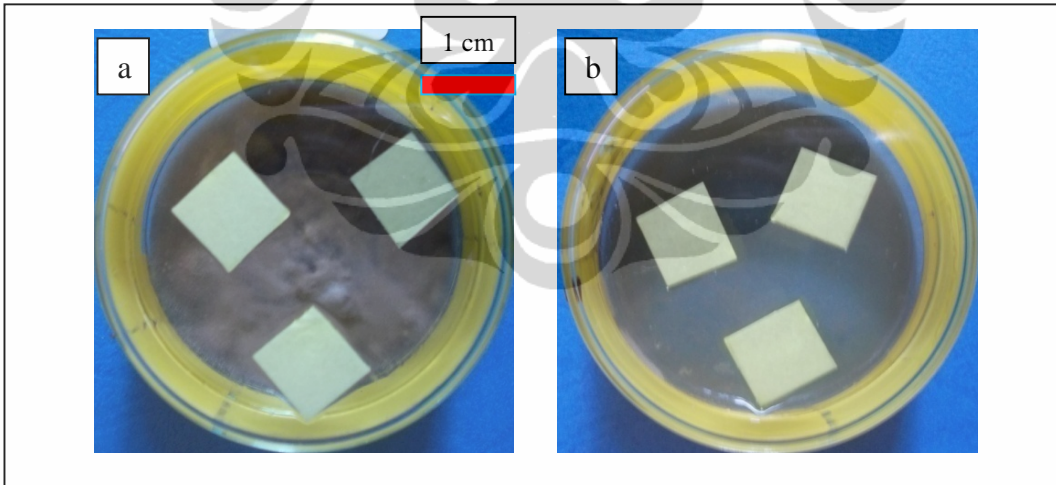


b. Tingkat antagonisme

Hasil penentuan tingkat antagonisme dari 49 (47 isolat hasil isolasi dan 2 isolat koleksi LIPI MC) yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. (2 isolat) dan *Mucor* sp. (1 isolat) lebih kompetitif melawan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* daripada isolat kapang rizosfer lainnya (Gambar I. 2). *Trichoderma* sp. dan *Mucor* sp. tumbuh cepat dan dapat menekan patogen dalam waktu 5 hari setelah inokulasi (Kelas-1), sedangkan kapang rizosfer lainnya tergolong dalam Kelas-2, 3, dan 4. Yang termasuk dalam Kelas-2, yaitu: *Aspergillus fumigatus* (8 isolat), *A. niger* (1 isolat hasil isolasi dan 2 isolat koleksi LIPI MC), *A. parasiticus* (1 isolat), *A. tamarii* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (2 isolat), *G. butleri* (1 isolat), *P. lilacinus* (1 isolat), *Penicillium* sp. 1 (2 isolat), dan *Penicillium* sp. 2 (1 isolat); Kelas-3, yaitu: *Arthirum* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*) (1 isolat), *A. parasiticus* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (3 isolat), dan *F. oxysporum* (1 isolat); dan Kelas-4, yaitu: *A. fumigatus* (1 isolat), *F. oxysporum* (1 isolat), *H. fuscoatra* (4 isolat), *P. lilacinus* (1 isolat), *Paecilomyces* sp. (2 isolat), *Penicillium* sp. 1 (3 isolat), *Penicillium* sp. 2 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (2 isolat), *T. leycettanus* (1 isolat). Widyastuti *et al.* (1998) menginformasikan bahwa *Trichoderma* sp. mempunyai daya antagonis yang tinggi terhadap kapang lain. Mekanisme antagonisnya yaitu dengan berkompetisi bahan makanan dengan kapang patogen. *Trichoderma* sp. dan *Mucor* sp. merupakan kapang yang pertumbuhannya berjalan dengan cepat sehingga mendesak pertumbuhan kapang patogen (Lubis & Lubis 2008; Nasahi 2010).





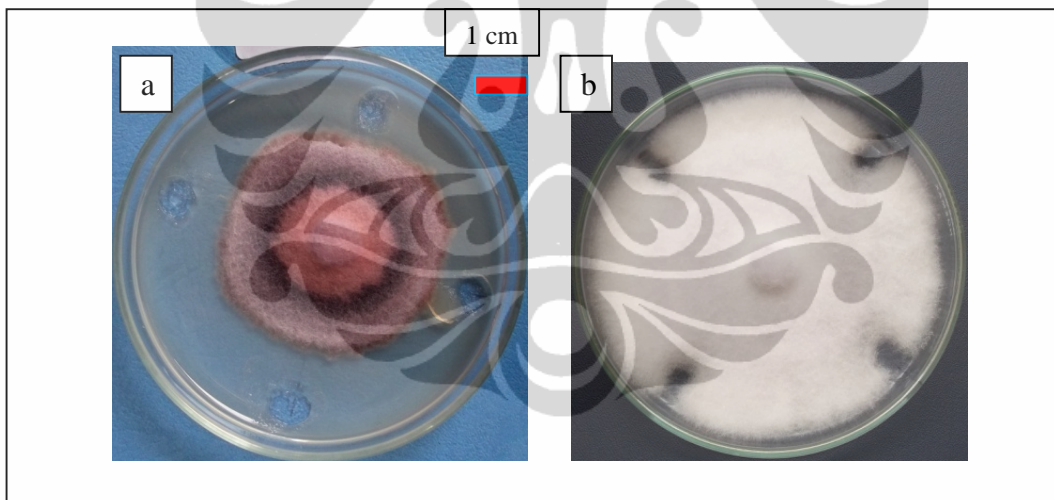


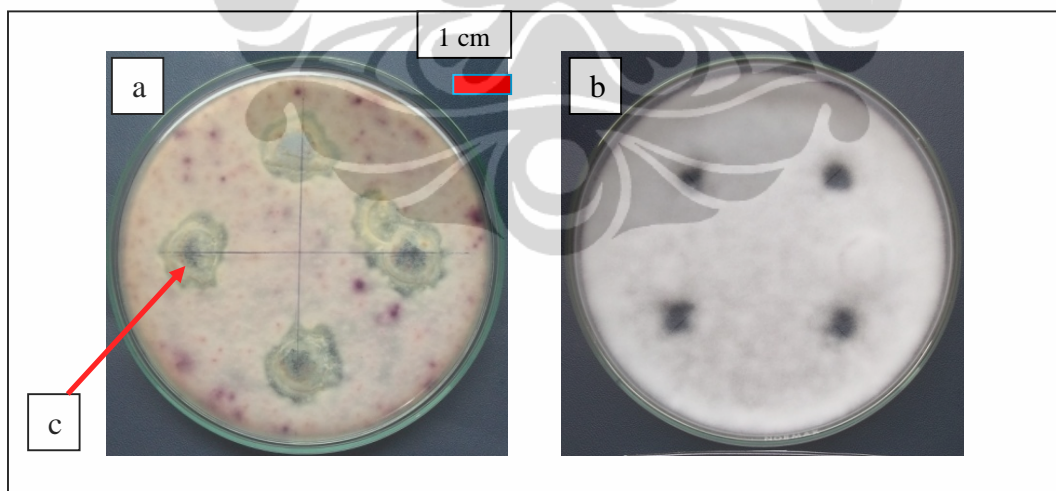
2. *Non-volatil*

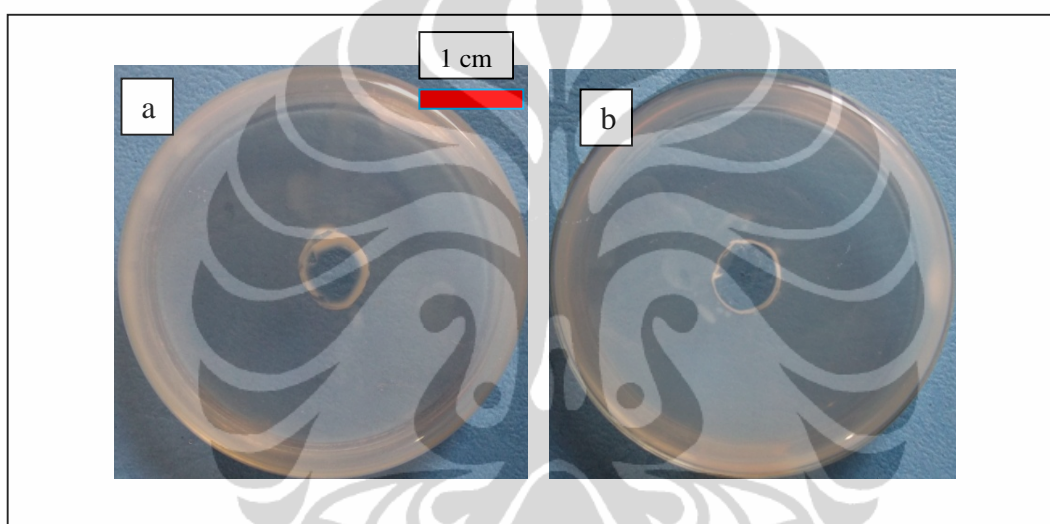
Hasil penentuan produksi agen antifungi *non-volatil* dari 49 isolat (47 isolat hasil isolasi dan 2 isolat koleksi LIPI MC) kapang rizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* menunjukkan bahwa 23 isolat terdeteksi memproduksi agen antifungi *non-volatil* dengan persen hambatan pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* berkisar 12,69 %–65,28 %. Persentase hambatan pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tertinggi (65,28 %) diperlihatkan oleh *A. niger*, sedangkan persentase hambatan terendah (12,69 %) dihasilkan oleh *P. lilacinus* (Gambar I. 5). Kapang rizosfer yang menghasilkan agen antifungi *non-volatil* adalah *A. fumigatus* (5 isolat), *A. niger* (3 isolat), *A. parasiticus* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (4 isolat), *F. oxysporum* (1 isolat), *G. butleri* (1 isolat), *H. fuscoatra* (1 isolat), *Mucor* sp. (1 isolat), *P. lilacinus* (1 isolat), *Penicillium* sp. 1 (1 isolat), *Penicillium* sp. 2 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (1 isolat) dan *Trichoderma* sp. (2 isolat).

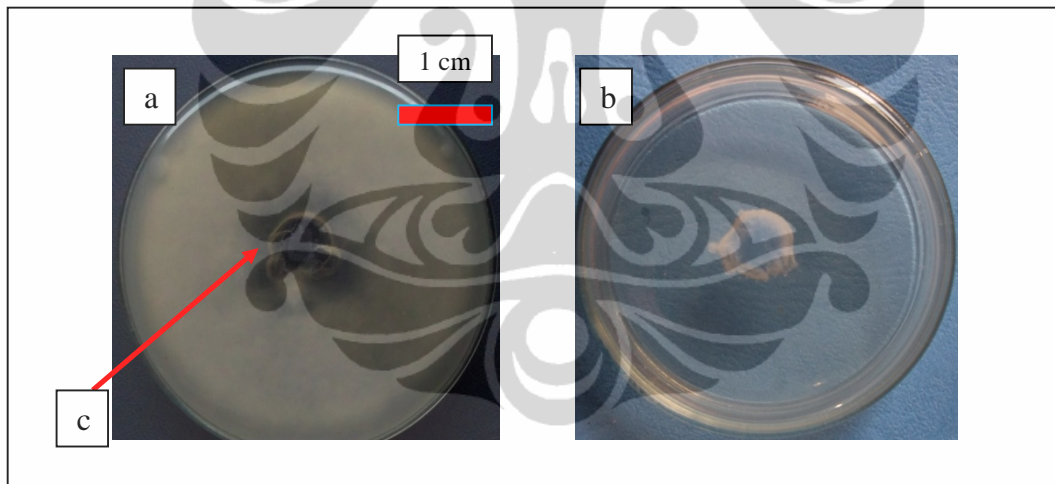
Adanya zona hambatan tanpa kontak hifa pada evaluasi antagonis dan *non-volatil* mengindikasikan adanya sekresi bahan penghambat (antibiotik dan enzim) yang dapat berdifusi oleh kapang rizosfer tersebut. *Aspergillus* spp. dapat mengeluarkan bahan beracun, seperti aflatoksin, aspergilin, dan fumigatin (Dwijoseputro 1978; Djafarudin 2000), dan penghasil protease (Saono & Basuki 1978; Djajasukma 1993) yang bersifat toksik terhadap mikroorganisme lain; *F. oxysporum* Lt173 diisolasi dari tanaman hias dapat menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *Alternaria alternate*, *Phytophthora capsici*, dan *Glomerella glycines* (Liu *et al.* 2010); *Penicillium* dapat menghasilkan substansi beracun citrinum (Dwijoseputro 1978; Djafaruddin 2000); dan *Trichoderma* dapat memproduksi antibiotik, seperti alemetisin, paraselsin, dan trichotoksin, serta enzim yang dapat menghancurkan sel kapang *Fusarium* sp. dan kapang tanah patogen lainnya (Harman *et al.* 1988; Djafaruddin 2000).

Evaluasi agen antifungi *non-volatil* memperlihatkan bahwa koloni

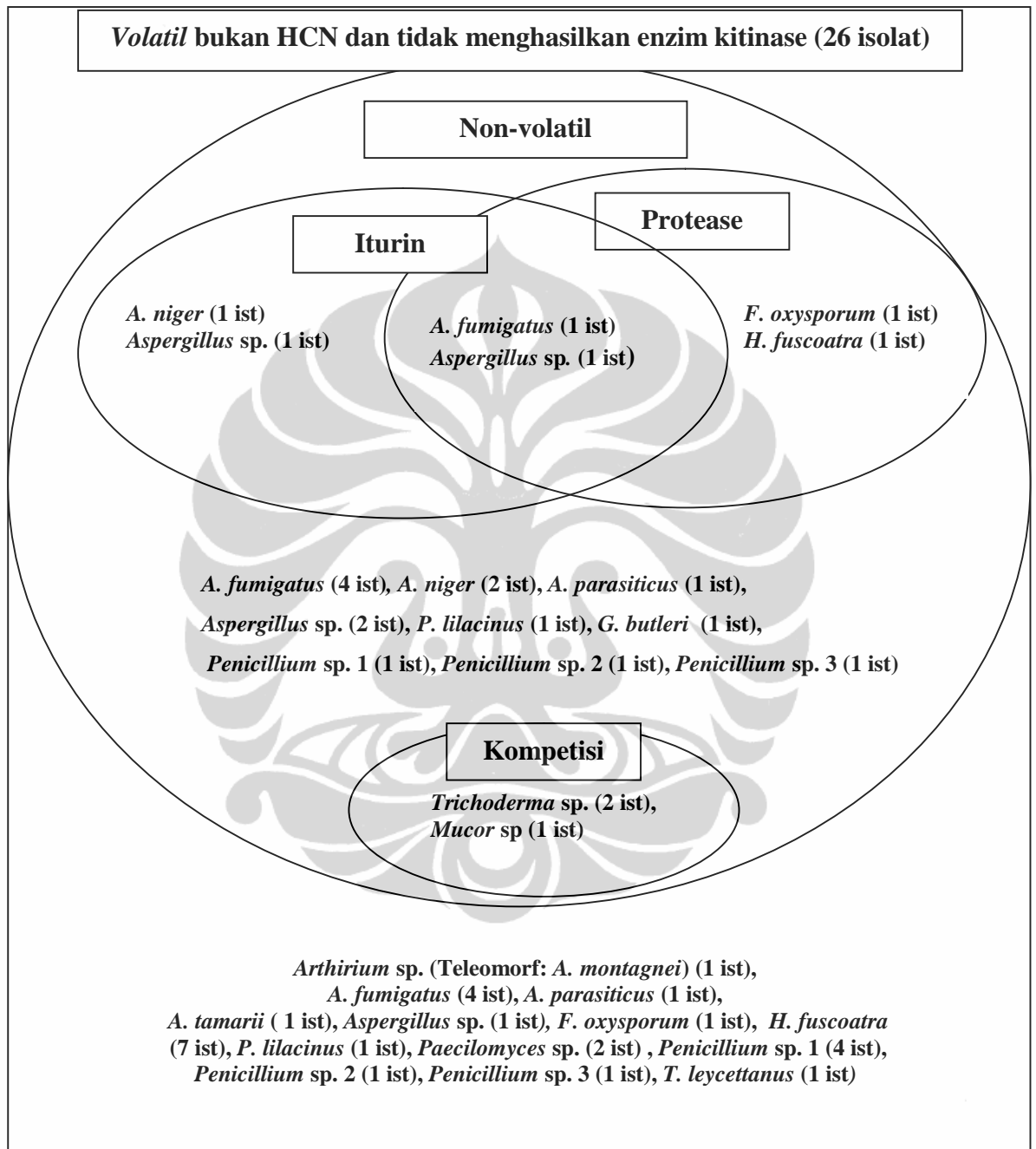








Aspergillus sp. dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan memproduksi agen antifungi *volatil* bukan HCN dan *non-volatil* iturin, serta enzim protease; *A. niger* dan 1 isolat *Aspergillus* sp. dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan menghasilkan agen antifungi *volatil* bukan HCN dan *non-volatil* iturin; *F. oxysporum* dan *H. fuscoatra* dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan memproduksi agen antifungi *volatil* bukan HCN dan *non-volatil* bukan iturin, serta enzim protease; *A. fumigatus* (4 isolat), *A. niger* (2 isolat), *A. parasiticus* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (2 isolat), *G. butleri* (1 isolat), *P. lilacinus* (1 isolat), *Penicillium* sp. 1 (1isolat), *Penicillium* sp. 2 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (1isolat) dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* melalui produksi agen antifungi *volatil* bukan HCN dan *non-volatil* bukan iturin; *Mucor* sp. dan *Trichoderma* sp. dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* melalui mekanisme kompetisi, produksi agen antifungi *volatil* bukan HCN, dan produksi agen antifungi *non-volatil* bukan iturin; serta kapang rizosfer lainnya, seperti *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*)(1isolat), *A. fumigatus* (4 isolat), *A. parasiticus* (1 isolat), *A. tamarii* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (1 isolat), *F. oxysporum* (1 isolat), *H. fuscoatra* (7 isolat), *P. lilacinus* (1 isolat), *Paecilomyces* sp. (2 isolat) , *Penicillium* sp. 1 (4 isolat), *Penicillium* sp. 2 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (1 isolat), *T. leycettanus* (1 isolat) dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* hanya dengan memproduksi agen antifungi *volatil* bukan HCN. Setiap isolat dalam spesies yang sama memiliki mekanisme penghambatan terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang berbeda. Nasahi (2010) melaporkan bahwa mekanisme antagonis untuk mengendalikan kapang patogen dapat berjalan simultan dari tiga mekanisme yaitu: kompetisi, mikoparasit, dan antibiosis (Gambar I.9).



Gambar I.9. Mekanisme penghambatan kapang rizosfer terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Ketidakmampuan isolat kapang rizosfer lainnya menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, kemungkinannya tidak mengandung

metabolit sekunder yang bersifat antifungi (*volatil* atau *non-volatil*) atau konsentrasi untuk pegujian *non-volatil* terlalu rendah (300µl/10 ml PDA) sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan kapang patogen tersebut. Keberhasilan kapang antagonis dalam mengendalikan kapang patogen sangat ditentukan dari konsentrasi kapang antagonisnya (Gultom 2008). Kemungkinan lainnya, kapang rizosfer tersebut mengandung metabolit sekunder yang berfungsi lainnya (Widawati *et al.* 2010).

KESIMPULAN

Kapang rizosfer yang telah diidentifikasi adalah isolat-isolat bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; seluruhnya termasuk dalam 17 spesies. Kapang rizosfer yang diisolasi dan telah diidentifikasi adalah *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*), *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. tamarii*, *Aspergillus* sp., *F. oxysporum*, *G. butleri*, *H. fuscoatra*, *Mucor* sp., *P. lilacinus*, *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp. 3, *T. leycettanus*, dan *Trichoderma* sp.

Mekanisme antagonis untuk mengendalikan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* terlihat beragam dari tiap spesies kapang rizosfer. Kompetisi dengan kapang patogen terlihat pada *Trichoderma* sp. dan *Mucor* sp. Semua isolat kapang rizosfer memproduksi agen antifungi *volatil* bukan HCN dan tidak dapat memproduksi enzim kitinase. Kapang rizosfer memproduksi agen antifungi *non-volatil* iturin yaitu *A. fumigatus*, *A. niger*, dan 2 isolat *Aspergillus* sp. Enzim protease diproduksi oleh *A. fumigatus*, *Aspergillus* sp., *F. oxysporum*, dan *H. fuscoatra*.

Agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* memperlihatkan bahwa koloni *F. oxysporum* f.sp *lycopersici* pada kontrol berwarna merah mengkudu jambu, sedangkan pada perlakuan berwarna merah indian. Demikian pula pada uji agen antifungi *volatil* dari *Penicillium* sp. memperlihatkan koloni *F. oxysorum* f.sp. *lycopersici* pada kontrol berwarna merah serah tua, sedangkan pada perlakuan berwarna hartal (Panduan warna Castell-Polychromos No. 9216).

SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut senyawa yang dihasilkan oleh agen antifungi *volatil* dan *non-volatil* lainnya dari kapang rizosfer.

DAFTAR ACUAN

- Alabouvette, C., P. Lemanceau & C. Steinberg. 1996. Biological control of fusarium wilts: opportunities for developing a commercial product. *In* "Principles and practice of managing soilborne plant pathogens" (R. Hall, ed.). The American Phytopathology Society, St Paul, Minnesota: 192–212.
- Alam, S.S., K. Sakamoto, Y. Amemiya & K. Inubushi. 2010. Biocontrol of soil-borne fusarium wilt of tomato and cabbage with a root-colonizing fungus, *Penicillium* sp. EU0013. 19th World congress of soil science, soil solution for a changing world. 1–6 August 2010, Brisbane, Australia: 20–22.
- Alwathnani, H.A. & K. Perveen. 2012. Biological control of fusarium wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria. *African Journal of Biotechnology* **11**(5): 1100–1105.
- Ando, K., C. Nakhashima, J.Y. Park & M. Ootoguro. 2003. Workshop on isolation methods of microbes. 24–26 Juni 2003, Biotechnology-LIPI, Cibinong: 44 hlm.
- Anindyawati, T. 2003. Mikrobia endofit: manfaat dan cara mengisolasinya. *Alam Kita* **12**(1): 11–14.
- Barnett, H.L. 1960. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 2nd ed. The American Phytopathology Society, St Paul, Minnesota: xxii + 218 hlm.

- Bella, D.K., H.D. Wells & C.R. Markman. 1982. Invitro antagonism of *Trichoderma* spesies against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* **72**: 372–382.
- Chen, M.H. & M.R. Johns. 1994. Effect of carbon source on ethanol and pigment production by *Monascus purpureus*. *Enzyme and Microbial Technology*. **16**(7): 584–590.
- Campbell, R. 1989. *Plant microbiology*. English Language Book Society, London: iv + 191 hlm.
- Dennis, C. & J. Webster. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* II. Production of volatile antibiotics. *Transaction British Mycological Society* **57**: 41–48.
- Djafaruddin. 2000. *Dasar-dasar pengendalian penyakit tanaman*. Bumi Aksara, Jakarta: ix + 271 hlm.
- Djajasukma, E. 1993. Produksi enzim protease *Mucor javanicus* dalam medium singkong (*Mannihot utilisima*). Ekspose II hasil penelitian dan pengembangan sumber daya hayati Puslitbag Biologi LIPI 1991/1992, Bogor: 95–100.
- Domsch K.H, W. Gams & T.H. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press, London: vii + 859 hlm.
- Dwidjoseputro. 1990. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Penerbit Djambatan, Jakarta: xii + 214 hlm.
- Eliza, A., Munif, I. Djatnika & Widodo. 2007. Karakter fisiologis dan peranan antibiosis bakteri perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan pemacu pertumbuhan tanaman pisang. *Jurnal Hortikultura* **17**(2): 150–160.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. van den Tweel-Vermeulen, A. Oetari & I. Santoso. 1999. *Pengenalan kapang tropik umum*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xiii + 134 hlm.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal & A. Oerati. 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xi + 238 hlm.
- Getha, K. & S. Vikineswary. 2002. Antagonistic effects of

- Streptomyces violaceusniger* strain g10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race-4: indirect evidence for the role of antibiosis in antagonistic process. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **28**: 303–310.
- Gultom, J.M. 2008. Pengaruh pemberian beberapa jamur antagonis dengan berbagai tingkat konsentrasi untuk menekan perkembangan jamur *Pythium* sp. penyebab rebah kecambah pada tanaman tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.). Skripsi Universitas Sumatera Utara, Medan: ix + 38 hlm.
- Harman, G.E., C.K. Hayes, M. Lorito, R.M Broadway, A. Di Pietro, C. Peterbauer & A. Tronsmo. 1998. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: Purification of chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* **83**: 313–318.
- Hood, M.A. 1991. Comparison of four methods for measuring chitinase activity and application of the 4-MUF assay in aquatic environments. *Journal of Microbiology Methods* **13**: 151–160.
- Ito T., I. Okane & A. Nakagiri. 1999. Mycoflora of the rizosphere of *Salicornia europaea* L., a halophytic plant. *IFO Research Communication* **19**: 34–40.
- Ito T., A. Nakagiri, M. Tanticharoen & L. Manoch. 2001. Mycobiota of mangrove forest soil in Thailand. *IFO Research Communication* **20**: 50–60.
- Joesi, E. & Novizan. 2003. *Mengendalikan hama dan penyakit tanaman*. Agro Media Pustaka, Depok: 96 hlm.
- Juzlova, P., L. Martinkova, J. Lozinski & F. Machek. 1994. Ethanol as substrate for pigment production by fungus *Monascus purpureus*. *Enzyme and Microbial Technology* **16**(11): 996–1001.
- Karim, V., B. Roux & F. Besson. 2004. Inhibition of *Streptomyces chromofuscus* phospholipase D by antifungal lipopeptides from *Bacillus subtilis*. *Journal of Antibiotics* **57**(8): 535–536.

- Lin, T.F. & A.L. Demain. 1993. Resting cell studies on formation of water soluble red pigments by *Monascus* sp. *Journal of Industrial Microbiology* **12**: 361–367.
- Liu, C., T. Liu, F. Yuan & Y. Gu. 2010. Isolating endophytic fungi from evergreen plants and determining their antifungal activities. *African Journal of Microbiology Research* **4**(21): 2243–2248.
- Lubis, Z. & T. Lubis. 2008. Kajian komparasi keanekaragaman jamur di rizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca* var. barangan). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Tinggi* **1**(2): 9–23.
- Martinkova, L., P. Juzlova & D. Vesely. 1995. Biological activity of polyketide pigments produced by the fungus *Monascus*. *Journal of Applied Bacteriology* **79**: 609–616.
- Nasahi, C. 2010. *Peran mikroba dalam pertanian organik*. Universitas Padjadjaran, Bandung: viii + 78 hlm.
- Olajuyigbe, F.M. & J.O. Ajale. 2005. Production dynamics of extracellular protease from *Bacillus* species. *African Journal of Biotechnology* **4**: 776–779.
- Osmond, D. L., C.R. Crozier & D.H. Hardy. 1997. Soilfact: Careful soil sampling-the key to reliable soil test information. North Carolina Cooperative Extension Service Publication AG-439-30. NC State University, Raleigh, N.C.: 5 hlm
- Ozbay, N., S.E. Newman & W.M. Brown. 2004. Evaluation of *Trichoderma harzianum* strain to control crown and root rot of Greenhouse Fresh Market Tomatoes. Proceeding XXVI IHC-Managing soil-borne pathogens: 79–85.
- Paulitz, T.C. & R.R. Belanger. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review Phytopathology* **39**: 103-133.
- Rao, S. 1994. *Mikroorganisme tanah dan pertumbuhan tanaman*. UI-Press, Jakarta: xi + 353 hlm.
- Samson, R.A., A.D. Hocking, J.I. Pitt & A.D. King. 1992. Modern methods in food mycology. Elsevier Publ., Amsterdam: 388 hlm.

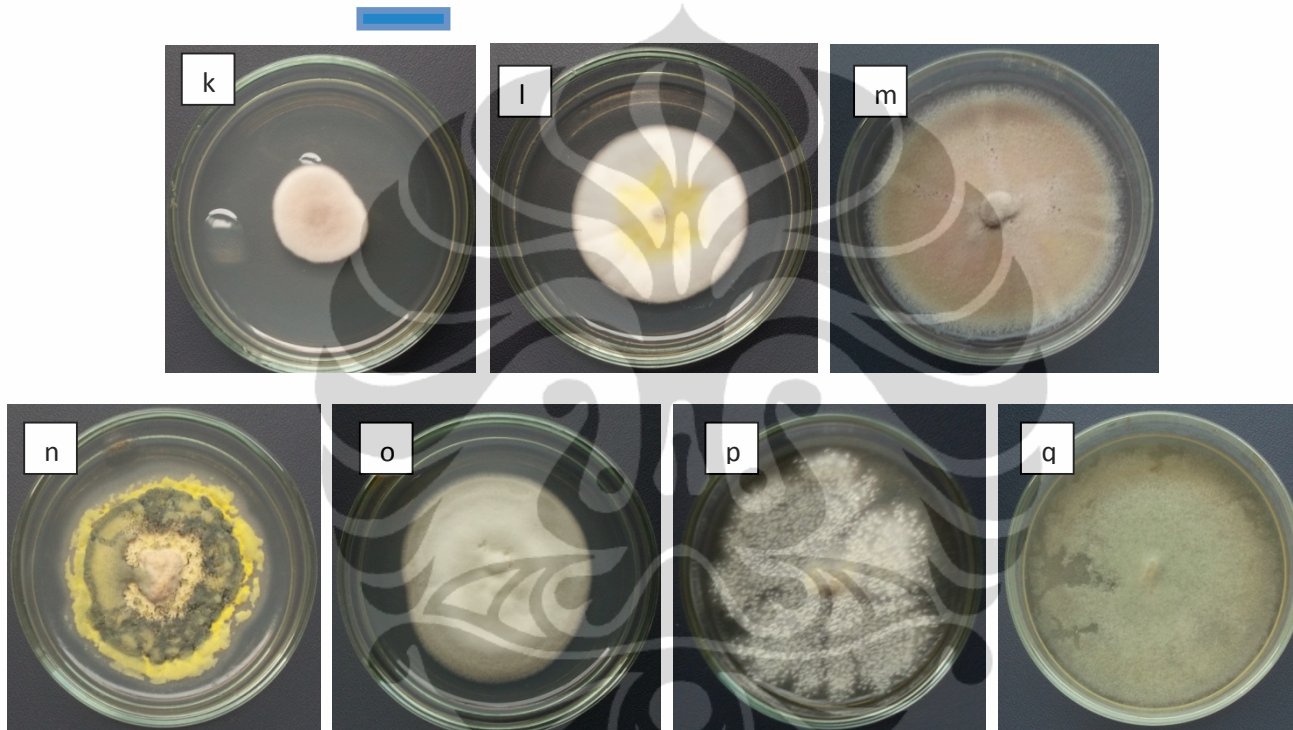
- Samson, R.A., N. Yilmaz, J. Houbraken, H. Spierenburg, K.A. Seifert, S.W. Peterson, J. Varga & J.C. Fresvad. 2011. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology* **70**: 159–183.
- Saono, S. & T. Basuki. 1978. The amylolytic and proteolytic activities of yeast and mycelia molds from ragi and some Indonesian traditional fermentated foods. *Annales Bogorienses* **6** (4): 207–219.
- Skidmore, A.M. & C.H. Dickinson. 1976. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodurum* and phylloplane fungi. *Transaction British Mycological Society* **66**: 57–64.
- Suciatmih. 2006. Mikoflora tanah tanaman pisang dan ubi kayu pada lahan gambut & tanah aluvial di Bengkulu. *Biodiversitas*: **7**(4): 303–306.
- Suciatmih. 2008. Isolasi, identifikasi, skrining, dan optimasi kapang endofit penghasil antimikroorganisme dari *Dendrobium crumenatum* Sw. (anggrek merpati), Tesis Pascasarjana FMIPA UI, Depok: xiv + 105 hlm.
- Syarmalina, Setyorini & N. Yantih. 2003. Isolasi dan skrining kapang endofitik dari dringo (*Acorus calamus* L.) yang berpotensi sebagai penghasil antimikroba. Prosiding seminar dan pameran nasional tumbuhan obat Indonesia XXIII, Jakarta: 169 – 174.
- Taufik, M. 2008. Efektivitas agen antagonis *Trichoderma* sp. pada berbagai media tumbuh terhadap penyakit layu tanaman tomat. Prosiding seminar ilmiah dan pertemuan tahunan PEI PFI XIX Komisarlat Daerah Sulawesi Selatan: 240 – 249.
- Tronsmo, A. & G. E. Harman. 1993. Detection and quantification of N-acetyl-Beta-D-glucosaminidase, chitobiosidase, and endochitinase in solutions and on gels. *Analytical Biochemistry*. **208**: 74–79.

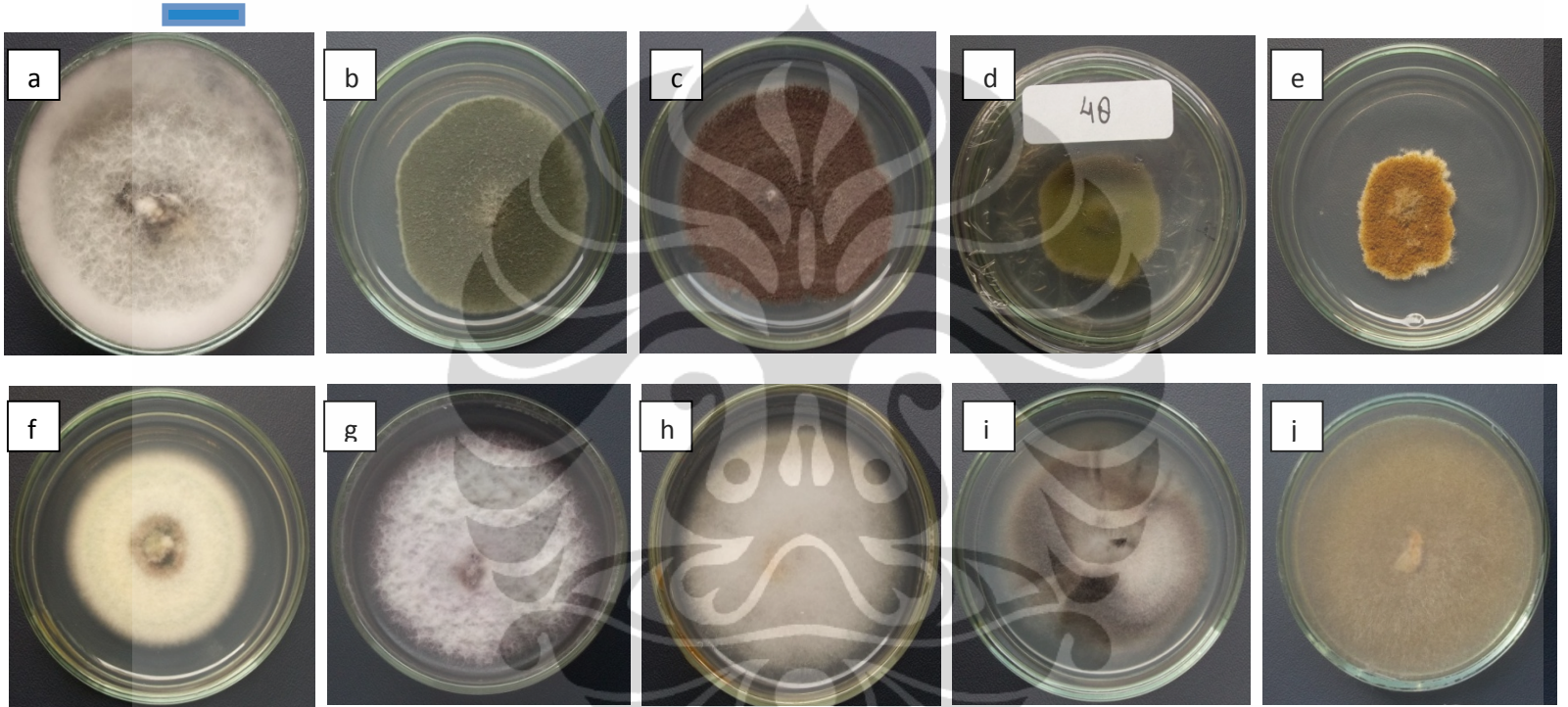
- Ting, A.S.Y., S.W. Mah & C.S. Tee. 2010. Identification of volatile metabolites from fungal endophytes with biocontrol potential towards *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* **5**(2): 177–182.
- Wei, G., J. W. Klopper & S. Tuzun. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Collectotrichum orbiculare* by select strain of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* **81**: 1508–1512.
- Widodo, M.S. Sinaga, I. Anas & M. Machmud. 1993. Penggunaan *Pseudomonas* spp. kelompok fluoresen untuk pengendalian penyakit akar gada (*Plasmiodiophora brassicae* Wor.) pada caisin (*Brassica campestris* L. var. *chinensis* (Rupr.) Olsosn). *Buletin Hama Penyakit Tanaman* **62**: 94–105.
- Widawati, S., A. Sugiarto, Suciati, Suliasih & Yuliar. 2010. Teknologi inovatif mikroba biofertilizer untuk mempercepat reklamasi lahan pertanian di kawasan penyangga Gunung Salak dan mikroba endofitik untuk agen biokontrol *Fusarium oxysporum* dan *Rhizoctonia solani*. Laporan akhir program intensif peneliti dan perekayasa tahun 2010. LIPI, Bogor: ix + 45 hlm.
- Widyastuti, S.M., Sumardi & N. Hidayat. 1998. Kemampuan *Trichoderma* spp. untuk pengendalian hayati jamur akar putih pada *Acacia mangium* secara *in vitro*. *Buletin Kehutanan UGM, Yogyakarta*: **36**: 25-38.
- Yuliar. 2002. Study on medium compositions to enhance iturin A productivity by *Bacillus subtilis* RB 14-CS. A Master Thesis. The Graduate School of Tokyo Institute of Technology, Tokyo: 59 hlm.
- Yuliar, D. Supriyati, H. Imamuddin, Suliasih & N. Mulyani. 2005. Studi potensi bakteri sebagai agen biokontrol penyakit tanaman. Laporan Teknik 2005. Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Bogor: 980–989.
- Zahara. H. & L. Hartati. 2007. Identifikasi jenis cendawan pada tanaman cabai (*Capsicum annum*) pada topografi yang berbeda. *Balai Besar Karantina Tumbuhan Belawan 2041* **4**: 1–8.

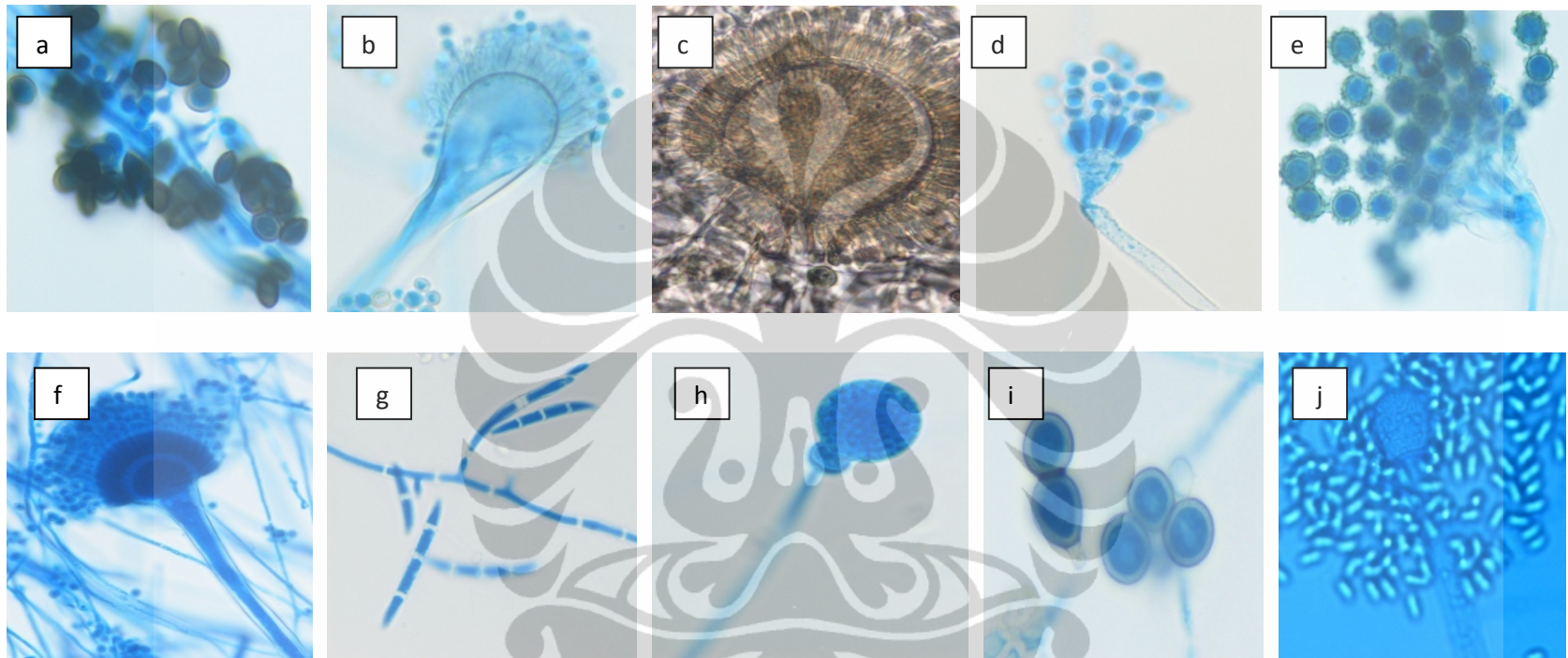


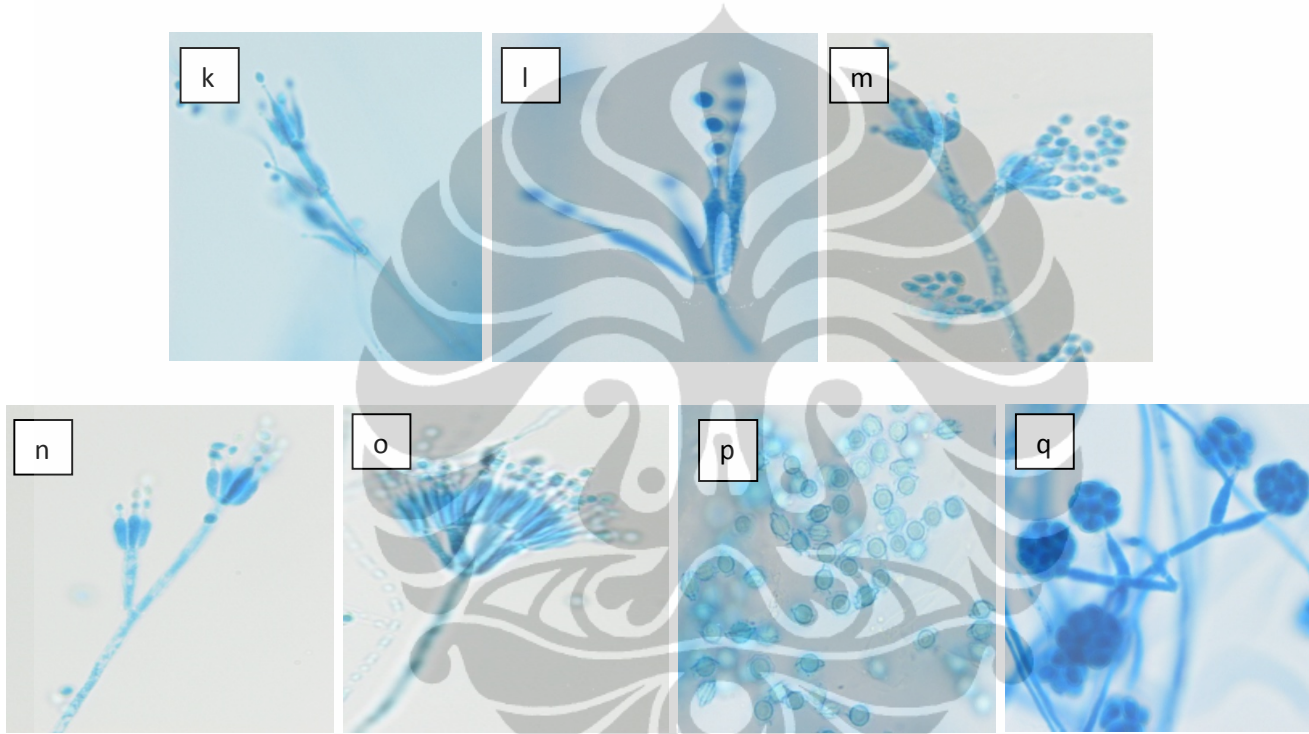












101 Putih	136 Ungu loh	171 Hijau muda
104 Kuning	137 Ungu terung	173 Hijau zaitun
105 Kuning langsung	139 Ungu muda	174 Hijau cemara
106 Kuning kunyit	141 Biru Delft	175 Sepia
107 Kuning limau	144 Biru kobalt muda	176 Coklat
108 Kuning kepodang	146 Biru langit	180 Coklat jangat
109 Kuning jenar	147 Biru muda	182 Hartal coklat
113 Jingga muda	148 Biru jelah	183 Hartal emas
115 Jingga tua	149 Biru Cina	184 Hartal
117 Merah merona	150 Biru Berlin	187 Hartal rentung
118 Merah marak	151 Biru Prusia	189 Kayu manis
121 Merah dadu	153 Biru merak	190 Merah Venetia
124 Merah serah mawar	155 Balu	191 Merah Pompei
126 Merah serah tua	159 Hijau rumput	192 Merah Indian
127 Merah serah muda	161 Hijau tembaga	194 Lembayung
128 Merah mengkudu mawar	162 Hijau jelah	195 Abu-abu muda
129 Merah mengkudu jambon	163 Hijau zamrud	196 Abu-abu perak
131 Merah daging medium	167 Hijau getah	197 Nilajada
133 Merah anggur	168 Hijau lumut	198 Hitam sabak
134 Merah lembayung	170 Hijau apel	199 hitam

Universitas Indonesia

Lampiran I. 6. Skrining penghambatan kapang rizosfer terhadap *F. oxysporum*
f.sp. *lycopersici*

no	Nama spesies	isolat	antagonis	tingkat antagonis	Non-volatil	volatil	iturin	protease
1	<i>Arthirium</i> (Teleomorf: <i>Apiospora montagnei</i> Sacc.)	1	18,14	3	-	23,35		
2	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres	9	45,95	2	25,53	53,56		
			40,42	2	-	48,40		
			48,51	2	-	20,55		v
			43,31	2	15,57	26,48		
			48,42	2	18,17	87,85		
			36,20	2	-	42,84		
			24,29	4	22,55	15,96	v	
			48,17	2	20,85	32,90		
25,66	2	18,91	57,06					
3	<i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem	1	34,91	2	22,91	31,39	v	
4	<i>Aspergillus parasiticus</i> Speare	2	25,93	2	-	43,11		
			21,48	3	39,80	38,10		
5	<i>Aspergillus tamarii</i> Kita	1	30,53	2	17,93	41,52		
6	<i>Aspergillus</i> sp.	5	46,57	3	30,78	69,45	v	
			28,75	3	41,99	54,08	v	v
			28,27	3	15,65	33,78		
			43,75	2	-	24,92		
			25,64	2	20,35	43,83		
7	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht	2	18,74	3	22,82	94,28		v
			18,03	4	-	82,3		
8	<i>Gongronella butleri</i> (Lendner) Peyronel & Dal Vesco	1	26,81	2	40,50	74,73		
9	<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen	8	18,20	4	-	34,75		
			23,13	4	20,13	48,80		
			28,78	4	-	53,30		v
			24,39	4	-	65,13		
			20,50	4	-	62,42		
			23,15	4	-	68,39		
			22,57	4	-	73,44		
			12,05	4	-	21,27		
10	<i>Mucor</i> sp.	1	21,46	1	28,45	33,04		
11	<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	2	26,59	2	12,69	42,55		
			23,45	4	-	70,05		
12	<i>Paecilomyces</i> sp.	2	24,83	4	-	65,57		
			20,92	4	-	69,56		
13	<i>Penicillium</i> sp. 1	5	23,53	4	-	70,74		
			19,38	4	-	65,56		
			16,19	4	-	69,90		
			28,34	2	-	34,32		
			32,08	2	18,20	76		
14	<i>Penicillium</i> sp. 2	2	21,40	2	-	93,61		
			20,38	4	45,13	82,43		
15	<i>Penicillium</i> sp. 3	2	23,24	4	-	24,71		
			22,33	4	30,36	53,73		
16	<i>Talaromyces leycettanus</i> Evans & Stolk	1	19,39	4	-	71,51		
17	<i>Trichoderma</i> sp.	2	47,59	1	52,78	82,67		
			66,87	1	42,64	88,56		
18	<i>Aspergillus niger</i> (Koleksi LIPI MC)	2	26,08	2	41,95	49,89	v	
			28,01	2	65,28	37,04	v	



Makalah II

PENGHAMBATAN KAPANG RIZOSFER TERHADAP *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Riajeng Kristiana

ABSTRACT

Aspergillus niger Van Tieghem and *Penicillium* sp., rhizosphere moulds were isolated from the rhizosphere of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants showed non-volatile and volatile antifungal agents respectively against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans. The activity of non-volatile and volatile antifungal agent of *A. niger* and *Penicillium* sp. to the germination of tomato seeds and conidia of the pathogen; and colonization of the pathogen on tomato were evaluated respectively. Both on the suspension of the pathogen conidia in stored 4° C and unstored in refrigerator that given non-volatile antifungal agent of *A. niger* (1 : 1) showed the highest percent inhibition of the pathogen conidia respectively 77.97 % and 76.08 % in observation to-8 hours. Non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentrations increased the germination of tomato respectively at 4.17 % on tomato that given the filtrate or suspension of conidia of the pathogen at 30 minutes incubation, while in the incubation time of 60 minutes, non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentration increased the germination of tomato at 5.25 % 21.04 % on tomato that given suspension of conidia of the pathogen and decreased the germination of tomato at 6.38 % 13.04 % on tomato that given the pathogen filtrate. Extending of incubation time for 30 minutes 4 days delayed the colonization of the pathogen on tomato that given a mixture of the filtrate or the suspension of the pathogen conidia and non-volatile antifungal agent of *A. niger* at various concentrations. The volatile antifungal agent of *Penicillium* sp. decreased the germination of conidia of the pathogen at 22.07 %.

Key words: *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, non-volatile and volatile antifungal agents, *Penicillium* sp., tomato

PENDAHULUAN

Penyakit layu fusarium pada tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans sulit dikendalikan. Selain kapang patogen dapat menembus ke dalam akar tanaman dan menyebar melalui jaringan vaskular, juga propagul patogen berdistribusi di dalam tanah seringkali di luar jangkauan bahan kimia (Campbell 1989).

Banyak strategi pengendalian penyakit layu fusarium pada tanaman tomat telah diteliti di lapangan. Strategi yang menjanjikan untuk menggantikan bahan kimia adalah teknologi biokontrol, digunakan secara tunggal atau sebagai komponen pengelolaan penyakit yang terintegrasi. *Aspergillus niger* dan *Penicillium* sp. adalah kapang rizosfer yang dapat menyebar luas di tanah dan bahan tanaman membusuk. Sebagai organisme saprofitik, *A. niger* dan *Penicillium* sp. dapat menggunakan berbagai bahan sebagai sumber karbon dan nitrogen dan mensekresikan bermacam enzim, seperti amilase, fosfatase, kitinase, dan protease (Domsch *et al.* 1980), menghasilkan agen antifungi *volatil* (Borjesson *et al.* 1990; Vikram *et al.* 2005; Ibrahim *et al.* 2011) dan *non-volatil* (Pandey *et al.* 1993; Sonjak *et al.* 2005). Kedua kapang rizosfer tersebut dapat beradaptasi cukup tinggi di bawah kondisi lingkungan yang beragam, dapat hidup pada bermacam-macam substrat, dan mudah ditumbuhkan pada substrat yang tidak mahal (Domsch *et al.* 1980), sehingga *A. niger* dan *Penicillium* sp. menjadi kandidat yang menarik untuk diteliti lebih lanjut pada penghambatan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dapat berkecambah pada benih tomat sehingga dapat menyebabkan perkecambahan benih tomat terhambat (Susilowati 2006). Perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* perlu dihambat agar penyakit layu fusarium tersebut dapat ditekan. Fase pertama patogenitas *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada tanaman tomat adalah perkecambahan konidia yang akan memulai siklus penyakit primer atau sekunder. Usaha penghambatan terhadap perkecambahan konidia merupakan langkah

penting untuk mengendalikan penyakit tersebut, karena usaha tersebut diharapkan dapat menekan patogenitas dan keganasan penyakit.

Alwathnani & Perveen (2012) melaporkan *A. niger* adalah kapang rizosfer yang dapat meningkatkan perkecambahan benih tomat yang diinokulasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sebesar 50 %, sedangkan *Penicillium* spp. sebesar 80 %. *Aspergillus niger* dan *Penicillium* spp. juga dapat meningkatkan secara nyata tinggi tanaman, kandungan klorofil, dan berat kering serta berat basah tanaman tomat. Selain itu, *A. niger* dapat menekan penyakit layu fusarium sebesar 35,6 %, sedangkan *P. citrinum* sebesar 24,4 %.

Tujuan dari penelitian adalah mengevaluasi agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* terhadap perkecambahan konidia dan kolonisasi patogen pada benih tanaman tomat dan agen antifungi *volatil* dari *Penicillium* sp. terhadap perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2011 sampai dengan bulan Maret 2012 di laboratorium Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong.

BAHAN

Kapang

Kapang rhizosfer yang diuji potensinya dalam pengujian agen antifungi adalah *Aspergillus niger* (koleksi LIPI MC) dan *Penicillium* sp. (hasil isolasi dari tanaman tomat). Kapang uji *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* diperoleh dari Laboratorium Klinik Penyakit UGM.

Tanaman

Benih tomat yang digunakan diperoleh dari pasar yang menjual bahan dan alat pertanian di Bogor.

Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah Agar (Oxoid), CaCO_3 (Merck), HCl (Merck), laktofenol (Merck), laktofenol biru (Merck), NaOH (Merck), pemutih, *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Oxoid), *Potato Dextrose Broth* (PDB) (Oxoid), dan *Yeast Extract* (Oxoid).

ALAT

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi: autoklaf (Hirayama), *cello tipe* (PVC), *cork borer*, corong, *cover glass*, filter 0,45 μm , inkubator (Memert), kamera digital, kertas saring Whatman No 1, *laminar air flow cabinet* (Holten), mikropipet (Eppendoref), mikroskop (Olympus), objek gelas, oven listrik (Memert), pH meter (Toink), sentrifuse (Kubota), timbangan digital (Ohaus), dan vorteks (Fisher scientific).

CARA KERJA

Medium peremajaan dan pemeliharaan

Potato Dextrose Agar (PDA)

Masing-masing Erlenmeyer 300 ml diisi 9,75 g bubuk PDA dan 250 ml akuades kemudian dipanaskan sampai larut sempurna. Sebagian medium dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 5 ml. Medium kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Selanjutnya medium dituang ke dalam cawan petri diameter 5 cm; medium dalam tabung reaksi dimiringkan dan dibiarkan mengeras.

Medium pengujian

Potato Dextrose Agar (PDA)

Masing-masing Erlenmeyer 300 ml diisi 9,75 g bubuk PDA dan 250 ml akuades kemudian dipanaskan sampai larut sempurna. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Selanjutnya medium dituang ke dalam masing-masing cawan petri diameter 9 dan 10 cm kemudian dibiarkan mengeras.

Medium fermentasi *A. niger*

Potato Dextrose Yeast (PDY)

Erlenmeyer 250 ml diisi 2,4 g bubuk PDB, 0,2 g *yeast extract*, 0,5 g CaCO₃, dan akuades 100 ml kemudian medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Syarmalina *et al.* 2003).

Medium fermentasi *F. oxysporum f.sp. lycopersici*

Potato Dextrose Broth (PDB)

Erlenmeyer 250 ml diisi 2,4 g bubuk PDB dan akuades 100 ml kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Noveriza & Miftakhurohmah 2010).

Medium pertumbuhan benih tomat

Masing-masing Erlenmeyer 300 ml diisi 6 g bubuk agar dan 250 ml akuades kemudian dipanaskan sampai larut sempurna. Medium dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 12 ml dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Selanjutnya medium dituang ke dalam cawan petri diameter 10 cm dan dibiarkan mengeras.

Penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger*.

Pembuatan inokulum konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Sebanyak 1 ml (1 %) suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ($8-13 \times 10^5$ CFU/ml) ditambahkan ke dalam Erlemeyer 250 ml yang berisi 100 ml medium fermentasi PDB. Biakan diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu $27^{\circ}-29^{\circ}$ C dan kecepatan agitasi 90 rpm selama 7 hari. Filtrat kapang patogen kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No 1. Hasil penyaringan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Endapan konidia yang didapatkan disuspensikan ke dalam 4 ml akuades steril (Noveriza & Miftakhurohmah 2010 yang dimodifikasi).

Pembuatan filtrat *A. niger*

Sebanyak 3 ml akuades steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi kapang rizosfer *A. niger* yang memperlihatkan aktivitas *non-volatil* tinggi dan berumur 7 hari. Biakan kapang tersebut kemudian dikerik perlahan dengan menggunakan jarum tanam untuk memperoleh suspensi konidia. Suspensi konidia divorteks agar homogen dan selanjutnya ditentukan jumlah koloni dengan metode *Colony Forming Unit* (CFU) (Gandjar *et al.* 1992).

Inokulasi

Sebanyak 1 ml (1 %) suspensi konidia *A. niger* ($6-10 \times 10^6$ CFU/ml) ditambahkan ke dalam Erlemeyer 250 ml yang berisi 100 ml medium fermentasi PDY. Biakan diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu $27^{\circ}-29^{\circ}$ C dan kecepatan agitasi 90 rpm selama 5 hari (Suciatmih 2008).

Pemanenan filtrat

Filtrat dipanen dengan cara memisahkan biomassa sel dengan sentrifugasi 12000 rpm selama 20 menit. Filtrat disaring dengan filter yang berukuran 0,45 μm dan disimpan pada suhu 4° C (Prapagdee *et al.* 2008 yang dimodifikasi). Filtrat digunakan sebagai *crude antifungal agent* untuk pengujian toksisitas.

Pengujian

Masing-masing sebanyak 250 μl suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan filtrat *A. niger* dimasukkan ke dalam tabung polipropilena 1,5 ml. Sebagai kontrol, 500 μl suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dimasukkan ke dalam tabung polipropilena 1,5 ml. Sebanyak 50 μl dari masing-masing perlakuan ditempatkan dalam objek gelas dan diamati di bawah mikroskop. Perkecambahan konidia diamati sebanyak 100 konidia dan dilakukan pada jam ke-0, ke-2, ke-4, ke-6, dan ke-8. Masing-masing pengamatan diulang 3 kali. Ada dua percobaan, yaitu: (1) menggunakan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang sudah disimpan di lemari pendingin (4° C) selama 7 hari; dan (2) menggunakan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tidak disimpan di lemari pendingin (segar).

Penghambatan kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kecambah benih tomat

Pembuatan inokulum konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Sebanyak 1 ml (1 %) suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (8–13 x 10⁵ CFU/ml) ditambahkan ke dalam Erlemeyer 250 ml yang berisi 100 ml medium fermentasi PDB. Biakan diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu 27°–29° C dan kecepatan agitasi 90 rpm selama 7 hari. Filtrat kapang patogen kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No 1. Hasil penyaringan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Endapan

konidia yang didapatkan disuspensikan ke dalam 4 ml akuades steril (Noveriza & Miftakhurohmah 2010 yang dimodifikasi).

Pembuatan filtrat *A. niger*

Sebanyak 3 ml akuades steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi kapang rizosfer *A. niger* yang memperlihatkan aktivitas *non-volátil* tinggi dan berumur 7 hari. Biakan kapang tersebut kemudian dikerik perlahan dengan menggunakan jarum tanam untuk memperoleh suspensi konidia. Suspensi konidia divorteks agar homogen dan selanjutnya ditentukan jumlah koloni dengan metode *Colony Forming Unit* (CFU) (Gandjar *et al.* 1992).

Inokulasi

Sebanyak 1 ml (1 %) suspensi konidia *A. niger* ($6-10 \times 10^6$ CFU/ml) ditambahkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml medium fermentasi PDY. Biakan diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu 27°–29° C dan kecepatan agitasi 90 rpm selama 5 hari (Suciatmih 2008).

Pemanenan filtrat

Filtrat dipanen dengan cara memisahkan biomassa sel dengan sentrifugasi 12000 rpm selama 20 menit. Filtrat disaring dengan filter yang berukuran 0,45 μm dan disimpan pada suhu 4° C (Prapagdee *et al.* 2008 yang dimodifikasi). Filtrat digunakan sebagai *crude antifungal agent* untuk pengujian toksisitas.

Ada 2 percobaan yaitu: (1) inkubasi selama 30 menit dan (2) inkubasi selama 60 menit dengan delapan perlakuan, yaitu: (1) 1 F-FO x 1 F-AN, (2) 1 F-FO x 2,5 F-AN, (3) 1 F-FO x 5 F-AN, (4) 1 K-FO x 1 F-AN, (5) 1 K-FO x 2,5 F-AN, (6) 1 K-FO x 5 F-AN, (7) Kontrol F-FO, dan (8) Kontrol K-FO.

Benih tomat disterilisasi menggunakan pemutih (5,25 % natrium hipoklorit) dengan konsentrasi 0,25 % dan 0,1 %, masing-masing selama 15 dan 20 menit, kemudian dicuci dengan air steril tiga kali (Prihatna 2003). Masing-masing tabung polipropilena 1,5 ml yang berisi filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan filtrat *A. niger* dimasukkan 30 benih tomat kemudian dibiarkan terendam selama 30 menit dan 1 jam. Sebagai kontrol adalah benih tomat yang direndam dalam filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tanpa filtrat *A. niger*. Sebanyak 8 benih tomat dari masing-masing perlakuan ditanam pada media agar lalu diinkubasi selama 10 hari. Kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kecambah tomat diamati di bawah mikroskop.

Penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi volatil dari *Penicillium* sp.

Kapang rizosfer *Penicillium* sp. yang memperlihatkan aktivitas volatil tinggi ditumbuhkan di bagian tengah dari medium PDA, ditutup rapat dengan cello-tipe, dimasukkan dalam kantong plastik, dan diinkubasi dalam suhu 27° C. Setelah 5 hari, dibuat pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} dari kapang patogen *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang berumur 7 hari. Sebanyak 100 µl suspensi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dari masing-masing pengenceran disebarkan dengan batang kaca bengkok diatas medium PDA dengan volume 10 ml; dan tutup cawan petri dari medium yang diinokulasi dengan *Penicillium* sp. digantikan dengan medium PDA yang berisi masing-masing pengenceran kapang patogen. Cawan petri dirapatkan dengan cello-tipe dan diinkubasi selama 3 hari. Perlakuan kontrol terdiri dari cawan petri berisi masing-masing pengenceran *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang diletakkan terbalik menutupi cawan petri yang hanya berisi medium PDA

dan diinkubasi selama 3 hari. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Populasi kapang patogen dihitung dengan metode *Colony Forming Unit* (CFU) (Gandjar *et al.* 1992).

Rancangan percobaan dan analisis data

Pengujian penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi *volatil* dari *Penicillium* sp. dan pengujian penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* dilakukan dengan rancangan acak lengkap (Gomez & Gomez 1984), sedangkan penghambatan kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada benih tomat yang diberi campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dengan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* dilakukan secara kualitatif.

Data hasil penelitian dianalisis dengan Analisis Varian (ANOVA) berdasarkan uji F dan perlakuan yang berbeda nyata diuji lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji tersebut untuk mengetahui pengaruh tertinggi dan terendah dari agen antifungi *volatil* dari *Penicillium* sp. terhadap perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* terhadap perkecambahan konidia.

Parameter

Parameter yang diamati untuk pengujian persentase perkecambahan konidia dihitung dengan rumus Susilo *et al.* (1993):

$$K = \frac{t \times 100 \%}{m + t}$$

K = Persentase perkecambahan konidia

t = Konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang berkecambah

m = Konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang tidak berkecambah

Perhitungan persentase penghambatan perkecambahan konidia dengan rumus:

$$P = \frac{K1 - K2}{K1} \times 100 \%$$

P = Persentase penghambatan perkecambahan konidia

K1 = Persentase perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kontrol

K2 = Persentase perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada perlakuan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger*.

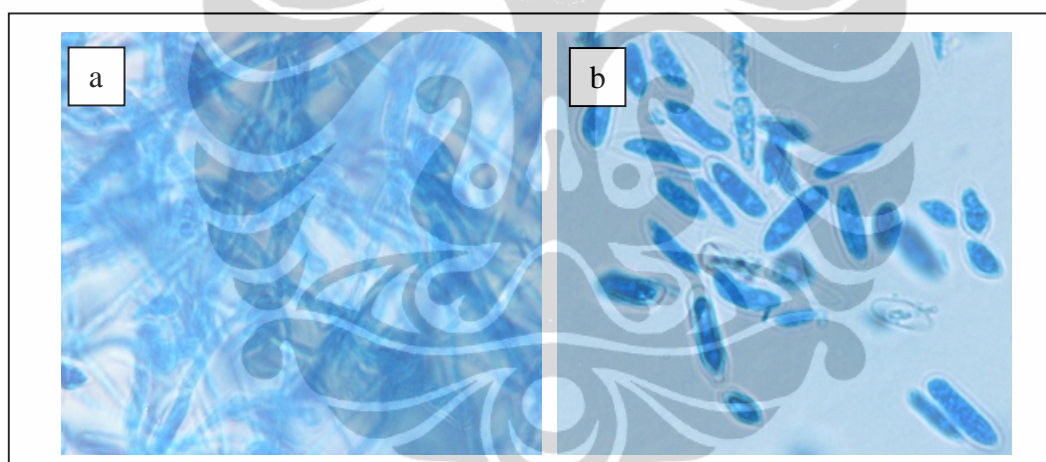
Analisis ANAVA pemberian agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) terhadap perkecambahan konidia patogen yang disimpan selama 7 hari di lemari pendingin (4 °C) menunjukkan pengaruh tidak nyata (> 0,05). Persentase penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tertinggi (77,97 %) pada konidia yang disimpan di lemari pendingin dihasilkan pada pengamatan jam ke-8 (Tabel II.1).

Hasil analisis ANAVA pemberian agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) terhadap perkecambahan konidia patogen yang tidak disimpan selama 7 hari di lemari pendingin (segar) memperlihatkan pengaruh nyata (< 0,05). Persentase penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tertinggi (76,08 %) pada konidia segar dihasilkan pada pengamatan jam ke-8 (Tabel II.1).

Tabel II.1. Penghambatan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger*

Jam ke-	Disimpan di lemari pendingin (4 °C)	Tidak disimpan di lemari pendingin (27°–29° C)
0	70,83 a	75,00 ab
2	56 a	69,56 b
4	53,85 a	59,53 c
6	75 a	70,27 ab
8	77,97 a	76,08 a

Keterangan : Data ditransformasi ke arc sin $x + 1$. Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji BNT pada $\alpha = 0,05$.



Gambar II.1. Konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada pengamatan 24 jam. (a) tanpa filtrat *A. niger*; (b) diberi agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* (Perbesaran 1000 x)

Agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* yang dicampur dengan suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) (disimpan selama 7 hari di lemari pendingin) selama 8 jam menghasilkan penghambatan konidia patogen tertinggi (77,97 %) tetapi tidak berbeda nyata dengan waktu inkubasi 0 jam, 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. Agen antifungi *non-volatil* yang dihasilkan oleh *A. niger* yang dicampur dengan suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) (tidak disimpan di lemari pendingin atau segar) selama 8 jam menghasilkan

penghambatan konidia patogen tertinggi (76,08 %) dan berbeda nyata dengan waktu inkubasi 2 jam dan 4 jam, tetapi tidak berbeda nyata dengan waktu inkubasi 0 jam dan 6 jam.

Ke-2 percobaan tersebut (konidia disimpan di lemari pendingin dan tidak disimpan di lemari pendingin atau segar) memperlihatkan pola hasil yang sama, yaitu penghambatan perkecambahan konidia menurun dari jam ke-0 ke jam ke-2 dan ke-4, tetapi penghambatan perkecambahan konidia meningkat dari jam ke-4 ke jam ke-6 dan ke-8. Kemungkinan tingginya persentase perkecambahan konidia patogen pada pengamatan jam ke-0; dan menurun pada jam ke-2 dan ke-4 adalah pada kontrol (hanya suspensi konidia patogen atau konidia ditambah akuades) konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sudah banyak yang berkecambah, sedangkan pada perlakuan (suspensi konidia patogen dicampur dengan filtrat *A. niger*) konidia patogen belum banyak yang berkecambah.

Pengamatan jam ke-2 dan ke-4 pada kontrol (hanya suspensi konidia patogen atau konidia ditambah akuades) konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang berkecambah banyak, sedangkan pada perlakuan (suspensi konidia patogen dicampur dengan filtrat *A. niger*) konidia patogen yang berkecambah juga banyak. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena metabolit yang dikeluarkan oleh *A. niger* pada selang waktu 2 sampai 4 jam dapat menstimulasi perkecambahan konidia patogen. Filtrat bakteri selain dapat menghambat pertumbuhan kapang juga dapat menstimulasi perkecambahan spora kapang VAM *Glomus versiforme* (Laskin *et al.* 2006). Sebanyak 50 μ M flavonoid (hesperitin atau epigenin) yang ditambahkan pada medium minimal dapat menstimulasi perkecambahan konidia *F. solani* f.sp. *pisi* dan *F. solani* f.sp. *phaseoli* (Ruan *et al.* 1995).

Pengamatan jam ke-6 dan ke-8 pada perlakuan (suspensi konidia patogen dicampur dengan filtrat *A. niger*), konidia patogen yang berkecambah menurun tetapi pada kontrol (hanya suspensi konidia patogen atau konidia ditambah akuades) konidia patogen yang berkecambah banyak. Kemungkinannya hal ini terjadi karena metabolit sekunder yang diproduksi oleh *A. niger* sudah dapat menghambat konidia patogen. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian Widawati *et al.* (2010), bahwa *A. niger* mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen *Rhizoctonia solani* sebesar 62,20 %. Beberapa senyawa, seperti

fumigatin, *aspergilin*, dan *aflatoksin* yang terkandung dalam *A. niger* mungkin bersifat toksik terhadap patogen tersebut (Dwijoseputro 1978; Djafarudin 2000).

Penghambatan kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada benih tomat

Hasil pengamatan secara kualitatif penghambatan kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada benih tomat oleh pemberian campuran filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi yang diinkubasi selama 30 menit memperlihatkan bahwa semua kecambah benih tomat baik pada kontrol maupun perlakuan terkolonisasi oleh *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada hari ke-1 (Tabel II.2 & Gambar II.2).

Tabel II.2. Penghambatan kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada benih tomat oleh pemberian campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* yang diinkubasi 30 menit.

Perlakuan	Hari ke-				
	1	2	3	4	5
1-F FOX : 1-F AN	+	+	+	+	+
1-F FOX : 2,5-F AN	+	+	+	+	+
1-F FOX : 5-F AN	+	+	+	+	+
1-K FOX : 1-F AN	+	+	+	+	+
1-K FOX : 2,5-F AN	+	+	+	+	+
1-K FOX : 5-F AN	+	+	+	+	+
F-FOX	+	+	+	+	+
K-FOX	+	+	+	+	+

Keterangan: + = terkolonisasi patogen; F-AN = filtrat *A. niger*;

F/K-FO = filtrat/konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

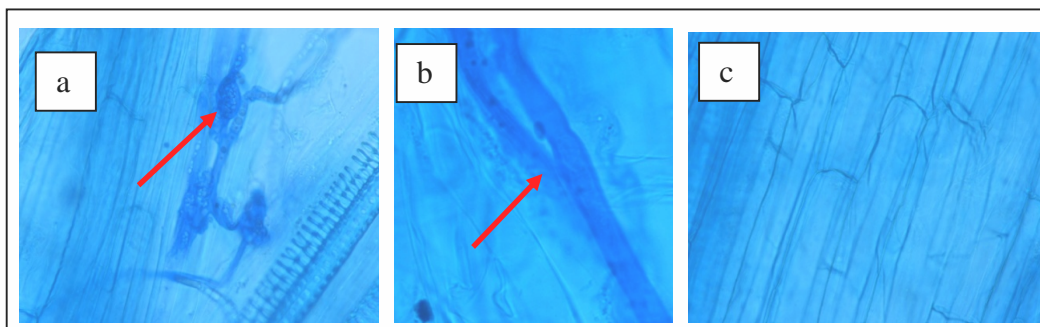
Hasil pengamatan filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* yang diberi agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai

konsentrasi diuji dan diinkubasi selama 60 menit memperlihatkan bahwa semua kecambah benih tomat pada kontrol sudah terkolonisasi oleh *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada hari ke-1, sedangkan pada perlakuan kecambah benih tomat terkolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada hari ke-5 (Tabel II.3 & Gambar II.2).

Tabel II.3. Penghambatan kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada benih tomat oleh pemberian campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* yang diinkubasi 60 menit.

Perlakuan	Hari ke-				
	1	2	3	4	5
1-F FOX : 1-F AN	-	-	-	-	+
1-F FOX : 2,5-F AN	-	-	-	-	+
1-F FOX : 5-F AN	-	-	-	-	+
1-K FOX : 1-F AN	-	-	-	-	+
1-K FOX : 2,5-F AN	-	-	-	-	+
1-K FOX : 5-F AN	-	-	-	-	+
F-FOX	+	+	+	+	+
K-FOX	+	+	+	+	+

Keterangan: - = tidak terkolonisasi patogen; + = terkolonisasi patogen; F-AN = filtrat *A. niger*; F/K-FO = filtrat/konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.



Gambar II.2. Akar tanaman tomat dengan dan tanpa kolonisasi dari *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; (a) Apresorium; (b) hifa; (c) akar tomat tanpa kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Perbesaran 1000 X).

Waktu inkubasi yang diperpanjang selama 30 menit hanya dapat memperlambat 4 hari munculnya kolonisasi patogen pada kecambah tomat. Perpanjangan waktu 30 menit inkubasi menyebabkan *A. niger* mempunyai cukup waktu untuk mengeluarkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Baharuddin *et al.* 2005).

Penghambatan perkecambahan benih tomat oleh pemberian campuran filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger*.

Persentase perkecambahan benih tomat pada kontrol (hanya diberi filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*) yang diinkubasi selama 30 menit adalah masing-masing 95,83 %, sedangkan pada perlakuan (diberi campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi) yang diinkubasi selama 30 menit adalah masing-masing 100 %. Pemberian agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi dapat meningkatkan perkecambahan tomat masing-masing sebesar 4,17 % pada tomat yang diberi filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan diinkubasi selama 30 menit (Tabel II.4).

Tabel II.4. Penghambatan perkecambahan benih tomat dengan campuran filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* yang diinkubasi selama 30 menit

Jenis Formulasi	Persentase Perkecambahan Benih Tomat
1 F-FO x 1 F-AN	100
1 F-FO x 2,5 F-AN	100
1 F-FO x 5 F-AN	100
1 K-FO x 1 F-AN	100
1 K-FO x 2,5 F-AN	100
1 K-FO x 5 F-AN	100
F-FO	95,83
K-FO	95,83
Kontrol Aquades	100

Keterangan: F-AN = filtrat *A. niger*; F-FO = filtrat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; K-FO = konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Persentase perkecambahan benih tomat menunjukkan hasil yang berbeda baik pada kontrol (hanya diberi filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*) maupun perlakuan (diberi campuran filtrat atau suspensi konidia patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi) yang diinkubasi selama 60 menit. Persentase perkecambahan benih tomat pada kontrol (hanya diberi suspensi konidia patogen) adalah 79,17 %, sedangkan pada perlakuan (diberi campuran suspensi konidia patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi) berkisar 83,33 % – 95,83 %. Dengan demikian, pemberian agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi dapat meningkatkan perkecambahan tomat sebesar 5,25 % – 21,04 % pada tomat yang diberi suspensi konidia patogen dan diinkubasi selama 60 menit. Persentase perkecambahan tomat pada kontrol (hanya diberi filtrat patogen) adalah 95,83 %, sedangkan pada perlakuan (diberi campuran filtrat patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi) berkisar 83,33 % – 89,72 %. Dengan demikian, pemberian agen antifungi *non-*

volatil dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi dapat menurunkan perkecambahan benih tomat sebesar 6,38 % 13,04 %, pada tomat yang diberi filtrat patogen dan diinkubasi selama 60 menit (Tabel II. 5.).

Tabel II.5. Penghambatan perkecambahan benih tomat dengan campuran filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* yang diinkubasi selama 60 menit.

Jenis formulasi	Persentase perkecambahan benih tomat
1 F-FO x 1 F-AN	87,5
1 F-FO x 2,5 F-AN	89,72
1 F-FO x 5 F-AN	83,33
1 K-FO x 1 F-AN	95,83
1 K-FO x 2,5 F-AN	83,33
1 K-FO x 5 F-AN	87,5
F-FO	95,83
K-FO	79,17
Kontrol Aquades	100

Keterangan: F-AN = filtrat *A. niger*; F-FO = filtrat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*;
K-FO = konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Pola hasil yang berbeda antara pemberian campuran filtrat patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi yang diinkubasi selama 60 menit (menurunkan perkecambahan benih tomat sebesar 6,38 % 13,04 %) dengan pemberian campuran suspensi konidia patogen dan agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi yang diinkubasi selama 60 menit (meningkatkan perkecambahan benih tomat 5,25 % 21,04 %), kemungkinannya disebabkan selain oleh bertambahnya waktu inkubasi dari 30 menit menjadi 60 menit juga filtrat patogen mengandung metabolit yang dapat menghambat perkecambahan tomat (Susilowati 2006). Penelitian Mugiono (2002) memperlihatkan bahwa benih kedelai yang direndam dalam filtrat

F. oxysporum menyebabkan penurunan viabilitas, perkecambahan abnormal, dan pembusukan benih. Zonno & Vurro (1999) menginformasikan bahwa deoxynivalenol, T-2 toxin, fumonisin B₁, nivalinol phytotoxin yang dihasilkan oleh *Fusarium* sp. dapat menekan perkecambahan biji.

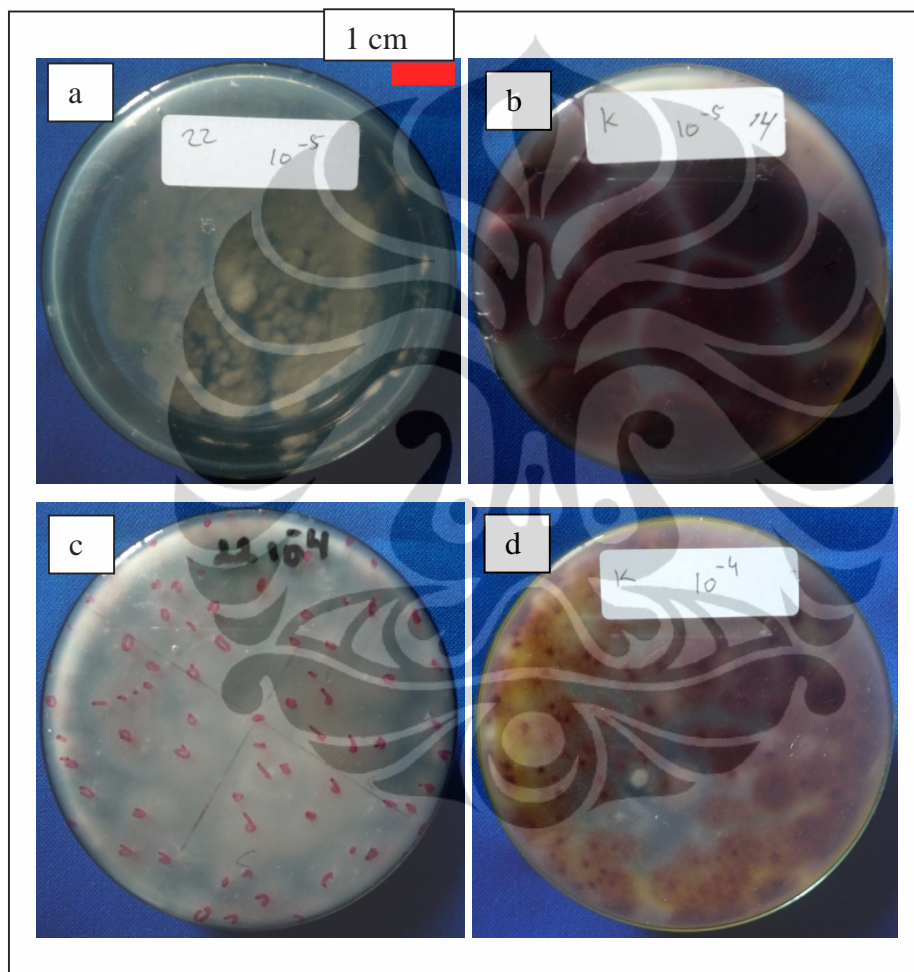
Penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi volatil dari *Penicillium* sp.

Hasil analisis ANAVA agen antifungi volatil yang dihasilkan oleh *Penicillium* sp. terhadap perkecambahan konidia (kepadatan populasi) *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* menunjukkan pengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) (Tabel II.6 & Gambar II.3).

Populasi patogen pada kontrol sebesar $8-23 \times 10^6$ CFU/ml, sedangkan pada perlakuan $7.7-17.6 \times 10^6$ CFU/ml sehingga dapat menurunkan populasi patogen sebesar 22,07 %. Adanya efek hambatan agen antifungi volatil dari *Penicillium* sp. terhadap perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* merupakan kontribusi yang sangat penting karena patogen menginfeksi tanaman tomat melalui perkecambahan konidia yang merupakan langkah awal untuk proses penyakit. Sunesson *et al.* (1996) menginformasikan bahwa *Penicillium commune* menghasilkan metabolit volatil, seperti alkohol (2-etil-1-heksanol; 1-heksanol; 2-metil-1-butanol; 3-metil-1-butanol; 2-metil-1-propanol; 1-oktan-3-01), keton (2-butanon; 3-oktanon; 2-pentanon), eter (metil asetat), campuran sulfur (dimetil disulfida dan dimetil trisulfida), terpen (geosmin dan 1-metoksi-4-(1-metiletil)-benzena). Alkohol merupakan antiseptik yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme. Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan sel dengan cara koagulasi atau denaturasi protein protoplasma sel atau menyebabkan sel mengalami lisis, yaitu dengan mengubah struktur membran sel sehingga menyebabkan kebocoran isi sel (Siswandono 1995; Rachmadi 1997).

Tabel II.6. Penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi volatil dari *Penicillium* sp.

Perlakuan	Populasi patogen CFU/ml
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	8–23 x 10 ⁶
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> + agen antifungi volatil dari <i>Penicillium</i> sp.	7.7–17.6 x 10 ⁶



Gambar II.3. Penghambatan perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* oleh agen antifungi volatil dari *Penicillium* sp. (a) *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pengenceran 10⁻⁵ dengan perlakuan *Penicillium* sp.; (b) *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pengenceran 10⁻⁵; (c) *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pengenceran 10⁻⁴ dengan perlakuan *Penicillium* sp.; (d) *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pengenceran 10⁻⁴.

KESIMPULAN

Pemberian agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) menunjukkan persentase penghambatan konidia patogen tertinggi pada penyimpanan 4 °C sebesar 77,97 % dan tidak disimpan (27°–29 °C) sebesar 76,08 %, pada pengamatan jam ke-8.

Agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi dapat meningkatkan perkecambahan benih tomat sebesar 4,17 % pada benih yang ditambahkan suspensi konidia dan filtrat patogen pada inkubasi 30 menit. Meningkatkan perkecambahan benih tomat sebesar 5,25 % 21,04 % pada benih yang ditambahkan suspensi konidia patogen, dan menurunkan perkecambahan benih tomat sebesar 6,38 % 13,04 % pada benih yang ditambahkan filtrat patogen, serta menghambat selama 4 hari kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kecambah benih tomat yang diberi campuran filtrat atau suspensi konidia patogen pada inkubasi 60 menit.

Agen antifungi *volatil* dari *Penicillium* sp. dapat menghambat perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sebesar 22,07 %.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa antifungi *volatil* dan *non-volatil* yang dihasilkan *A. niger* serta *Penicillium* sp. sehingga dapat diterapkan di lapangan.

DAFTAR ACUAN

Alwathnani, H.A. & K. Perveen. 2012. Biological control of fusarium wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria. *African Journal of Biotechnology* **11**(5): 1100–1105.

- Baharuddin, M. T. Arfah & Syahidah. 2005. Pemanfaatan serbuk kayu jati (*Tectona grandis* L.) yang direndam dalam air dingin sebagai media tumbuh jamur tiram (*Pleurotus comunicipae*). *Journal of Perennial* **2**(1): 1–5.
- Borjesson, T., U. Stollman & J. Schnurer. 1990. Volatile metabolites and other indicator of *Penicillium aurantiogriseum* growth on different substrates. *Applied and Environmental Microbiology* **56**(12): 3705–3710.
- Campbell, R. 1989. *Plant microbiology*. English Language Book Society, London: iv + 191 hlm.
- Djafaruddin. 2000. *Dasar-dasar pengendalian penyakit tanaman*. Bumi Aksara, Jakarta: ix + 271 hlm.
- Djajasukma, E. 1993. Produksi enzim protease *Mucor javanicus* dalam medium singkong (*Mannihot utilisima*). Ekspose II hasil penelitian dan pengembangan sumber daya hayati Puslitbag Biologi LIPI 1991/1992, Bogor: 95–100.
- Domsch K.H, W. Gams & T.H. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press, London: vii + 859 hlm.
- Dwidjoseputro. 1990. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Penerbit Djambatan, Jakarta: xii + 214 hlm.
- Gandjar, I., I.R. Koentjoro, W. Mangunwardoyo & L. Soebagya. 1992. *Pedoman praktikum mikrobiologi dasar*. Jurusan Biologi, FMIPA, UI, Jakarta: vii + 87 hlm.
- Gomez, K.A. & A.A. Gomez. 1984. *Statistical procedures for agricultural research*. 2nd ed. John Wiley & Sons Inc., Canada: xvi + 680 hlm.
- Ibrahim, A.D., H. Hussaini, A. Sani, A.A. Aliero, & S.E. Yakubu. 2011. Volatile metabolites profiling to discriminate diseases of tomato fruits inoculated with three toxigenic fungal pathogens. *Research in Biotechnology* **2**(3): 14–22.
- Laskin, A.I., S. Sariaslani & G.M. Gadd. 2006. *Advances in applied microbiology*. San Diego, USA: 64: 125–136.

- Mugiono. 2002. Pengujian potensi minyak sereh wangi dan minyak cengkeh untuk mengendalikan cendawan patogenik terbawa benih kedelai (*Glycine max* (L) Merr.): *Aspergillus flavus* (Link.) dan *Fusarium oxysporum* (Schl.). Skripsi Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor: 30 hlm.
- Noveriza, R. & Miftakhurohmah. 2010. Efektivitas ekstrak methanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dan daun jeruk purut (*Citrus hirtellia*) sebagai antijamur pada pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Litri* **16**(1): 6–11.
- Pandey, R.R., D.K. Arora & R.C. Dubey. 1993. Antagonistic interactions between fungal pathogens and phylloplane fungi of guava. *Mycopathologia* **124**(1): 31–39.
- Prapagdee, B., C. Kuekulvong & S. Mongkulsuk. 2008. Antifungal potential of extra cellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Sciences* **4**: 330–337.
- Prihatna, C. 2003. Antagonisme *Serratia marcescens* DS-8 dan *Aeromonas caviae* WS7b terhadap *Fusarium oxysporum*. Skripsi Institut Pertanian Bogor: vi + 11 hlm.
- Rachmadi, T. 1997. *Penanganan esensial dasar kegawat-daruratan obstetri dan bayi baru lahir*. Bakti Husada, Jakarta: 61 hlm.
- Ruan, Y., V. Kotraiah & D.C. Straney. 1995. Flavonoids stimulate spore germination in *Fusarium solani* pathogenic on legumes in a manner sensitive to inhibitors of cAMP-dependent protein kinase. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **8**(6): 929–938.
- Siswandono, S. B. 1995. *Kimia medisinal*. Airlangga University Press, Surabaya: 247–256.
- Sonjak, S., J.C. Frisvad & N. Gunde-Cimerman. 2005. Comparison of secondary metabolite production by *Penicillium crustosum* strains, isolated from Arctic and other various ecological niches. *FEMS Microbiology Ecology* **53**: 51–60.

- Suciatmih. 2008. Isolasi, identifikasi, skrining, dan optimasi kapang endofit penghasil antimikroorganisme dari *Dendrobium crumenatum* Sw. (anggrek merpati), Tesis Pascasarjana FMIPA UI, Depok: xiv + 105 hlm.
- Sunesson, A.L., C.A. Nilsson, B. Andersson & G. Blomquist. 1996. Volatile metabolites produced by two fungal species cultivated on building materials. *Annales Occupational Hygiene* **40**(4): 397–410.
- Susilo, A., S. Santoso & H.A. Tulung. 1993. Sporulasi, viabilitas cendawan *Metarrhizium anisopliae* (Metsc.) Sorokin pada media jagung dan patogenisitasnya terhadap larva *Oryctes rhinoceros*. Prosiding makalah simposium patologi serangga I: 105–106.
- Susilowati. 2006. Matriconditioning plus fungisida nabati untuk mengendalikan cendawan dominan penyebab *damping-off* pada tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Skripsi Jurusan Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor: ix + 60 hlm.
- Syarmalina, Setyorini & N. Yantih. 2003. Isolasi dan skrining kapang endofitik dari dringo (*Acorus calamus* L.) yang berpotensi sebagai penghasil antimikroba. Prosiding seminar dan pameran nasional tumbuhan obat Indonesia XXIII, Jakarta: 169–174.
- Widawati, S., A. Sugiarto, Suciatmih, Suliasih & Yuliar. 2010. Teknologi inovatif mikroba biofertilizer untuk mempercepat reklamasi lahan pertanian di kawasan penyangga Gunung Salak dan mikroba endofitik untuk agen biokontrol *Fusarium oxysporum* dan *Rhizoctonia solani*. Laporan akhir program intensif peneliti dan perekayasa tahun 2010. LIPI, Bogor: ix + 45 hlm.
- Vikram, A., H. Hamzehzarghani & A.C. Kushalappa. 2005. Volatile metabolites from the headspace of onion bulbs inoculated with postharvest pathogens as a tool for disease discrimination. *Canadian Journal of Plant Pathology* **27**(2): 194–203.
- Zonno, M.C. & M. Vurro. 1999. Effect of fungal toxins on germination of *Striga hermonthica* seeds. *Weed Research* **39**: 15–20.



DISKUSI PARIPURNA

Kapang yang menempati daerah rizosfer tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) akan mendapatkan makanan dari eksudat yang dikeluarkan tanaman tersebut dan sebaliknya kapang rizosfer dapat menghasilkan dan mensekresikan bahan bioaktif termasuk mikotoksin, enzim, dan metabolit lainnya (Anindyawati 2003). Bahan bioaktif yang dikeluarkan oleh kapang rizosfer dapat dimanfaatkan sebagai agen antifungi terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans, penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman tomat.

Sebanyak 94 isolat kapang rizosfer diisolasi dari lahan pertanian konvensional tanaman tomat pada 2 desa, yaitu: Desa Cikahuripan dan Desa Sukamulya, Sukabumi. Lahan pertanian tanaman tomat di Desa Cikahuripan, merupakan lahan yang sudah 15 tahun ditanami tanaman tomat dengan sistem konvensional. Pada lahan tersebut dapat diisolasi 43 isolat kapang rizosfer dan 26 isolat di antaranya bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* serta telah diidentifikasi termasuk ke dalam 8 spesies, yaitu: *Aspergillus fumigatus* Fres. (7 isolat), *Aspergillus niger* Van Tieghem (1 isolat), *Aspergillus tamarii* Kita (1 isolat), *Aspergillus* sp. (3 isolat), *Fusarium oxysporum* Schlecht. (1 isolat), *Humicola fuscoatra* Traaen (7 isolat), *Penicillium* sp. 1 (4 isolat), *Penicillium* sp. 2 (2 isolat). *Aspergillus fumigatus* dan *H. fuscoatra* mendominasi kapang rizosfer di Desa Cikahuripan. Lahan pertanian tanaman tomat di Desa Sukamulya merupakan lahan pertanian yang baru dibuka 8 bulan dan sebelumnya merupakan lahan yang ditumbuhi semak belukar. Pada lahan tersebut dapat diisolasi 51 isolat kapang rizosfer dan 21 isolat di antaranya bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* serta telah diidentifikasi termasuk ke dalam 14 spesies, yaitu: *Arthirium* sp. (Teleomorf: *Apiospora montagnei* Sacc.) (1 isolat), *A. fumigatus* (2 isolat), *Aspergillus parasiticus* Speare (2 isolat), *Aspergillus* sp. (2 isolat), *F. oxysporum* (1 isolat), *Gongronella butleri* (Lendner) Peyronel & Dal Vesco (1 isolat), *H. fuscoatra* (1 isolat), *Mucor* sp. (1 isolat), *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (2 isolat), *Paecilomyces* sp. (2 isolat), *Penicillium* sp. 1 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (2 isolat),

Talaromyces leycettanus Evans & Stolk (1 isolat), dan *Trichoderma* sp. (2 isolat). Pada lahan tersebut tidak ada kapang rizosfer yang mendominasi (Tabel 1.1).

Kedua lahan pertanian tersebut memiliki perbedaan keragaman kapang rizosfer. Lahan di Desa Cikahuripan, spesies yang didapatkan lebih sedikit dibandingkan dengan spesies yang didapatkan di desa Sukamulya. Hal tersebut kemungkinannya disebabkan oleh pestisida dan pupuk yang digunakan secara terus menerus selama 15 tahun dapat membunuh mikroorganisme yang terdapat pada lahan tersebut. Seperti yang dikemukakan Nasahi (2010), penggunaan pestisida dapat mengurangi keanekaragaman organisme tanah. Kapang rizosfer yang masih dapat bertahan hanyalah kapang yang memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi atau kapang yang sudah mengalami koevolusi.

Kapang rhizosfer yang telah diidentifikasi adalah isolat yang bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; yang seluruhnya termasuk dalam 17 spesies. Satu spesies kapang rhizosfer termasuk dalam Ascomycotina, 2 spesies kapang rhizosfer dari 2 genera termasuk dalam Zygomycotina, dan 14 spesies kapang rizosfer dari 7 genera termasuk dalam *Mitosporic Moulds* (Deuteromycotina).

Kapang rizosfer yang diisolasi dan telah diidentifikasi ialah *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*) (1 isolat), *A. fumigatus* (9 isolat), *A. niger* (1 isolat hasil isolasi dan 2 isolat koleksi LIPI MC), *A. parasiticus* (2 isolat), *A. tamarii* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (5 isolat), *F. oxysporum* (2 isolat), *G. butleri* (1 isolat), *H. fuscoatra* (8 isolat), *Mucor* sp. (1 isolat), *P. lilacinus* (2 isolat), *Paecilomyces* sp. (2 isolat), *Penicillium* sp. 1 (5 isolat), *Penicillium* sp. 2 (2 isolat), *Penicillium* sp. 3 (2 isolat), *T. leycettanus* (1 isolat), dan *Trichoderma* sp. (2 isolat) (Lampiran I.1, I.2, I.3 & I.4).

Talaromyces merupakan genera kapang dari Ascomycotina; *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*), *Aspergillus*, *Fusarium*, *Humicola*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* merupakan genera kapang dari *Mitosporic Moulds*; serta *Gongronella* dan *Mucor* merupakan genera kapang dari Zygomycotina. *Aspergillus* merupakan genera kapang yang banyak ditemukan, yaitu 5 spesies.

Selain *T. leycettanus*, kapang rizosfer lainnya, seperti *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*), *Aspergillus*, *Fusarium*, *Gongronella*, *Humicola*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* adalah umum dan telah banyak dilaporkan (Domsch *et al.* 1980; Ito *et al.* 1999; Ito *et al.* 2001; Lubis & Lubis 2008; Suciati 2006; Zahara & Hartati 2007). *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*) dan *T. leycettanus* merupakan koleksi kapang baru dari rizosfer tanaman tomat bagi LIPI MC.

Aspergillus fumigatus dan 1 isolat *Aspergillus* sp. dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan memproduksi agen antifungi volatil bukan HCN dan non-volatil iturin, serta enzim protease; *A. niger* dan 1 isolat *Aspergillus* sp. dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan menghasilkan agen antifungi volatil bukan HCN dan non-volatil iturin; *F. oxysporum* dan *H. fuscoatra* dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan memproduksi agen antifungi volatil bukan HCN dan non-volatil bukan iturin, serta enzim protease; *A. fumigatus* (4 isolat), *A. niger* (2 isolat), *A. parasiticus* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (2 isolat), *G. butleri* (1 isolat), *P. lilacinus* (1 isolat), *Penicillium* sp. 1 (1 isolat), *Penicillium* sp. 2 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (1 isolat) dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dengan menghasilkan agen antifungi volatil bukan HCN dan non-volatil bukan iturin; *Mucor* sp. dan *Trichoderma* sp. dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* melalui mekanisme kompetisi, produksi agen antifungi volatil bukan HCN, dan produksi agen antifungi non-volatil bukan iturin; dan kapang rizosfer lainnya, seperti *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*) (1 isolat), *A. fumigatus* (4 isolat), *A. parasiticus* (1 isolat), *A. tamarii* (1 isolat), *Aspergillus* sp. (1 isolat), *F. oxysporum* (1 isolat), *H. fuscoatra* (7 isolat), *P. lilacinus* (1 isolat), *Paecilomyces* sp. (2 isolat), *Penicillium* sp. 1 (4 isolat), *Penicillium* sp. 2 (1 isolat), *Penicillium* sp. 3 (1 isolat), *T. leycettanus* (1 isolat) dapat menghambat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* hanya dengan memproduksi agen antifungi volatil bukan HCN. Agen antifungi volatil dan non-volatil yang dihasilkan kapang rizosfer dapat merubah warna koloni *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Semua

isolat kapang rizosfer yang antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tidak menghasilkan enzim kitinase.

Kapang rizosfer penghasil agen antifungi *volatil* yang dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* cukup tinggi diuji aktivitasnya lebih lanjut terhadap penghambatan perkecambahan konidia patogen; dan kapang rizosfer penghasil agen antifungi *non-volatil* yang dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tertinggi diuji aktivitasnya lebih lanjut terhadap penghambatan perkecambahan konidia dan kolonisasi kapang patogen pada tanaman tomat.

Agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* yang dicampur dengan suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) (disimpan selama 7 hari di lemari pendingin) selama 8 jam menghasilkan penghambatan konidia patogen tertinggi (77,97) tetapi tidak berbeda nyata dengan waktu inkubasi 0 jam, 2 jam, 4 jam, dan 6 jam. Agen antifungi *non-volatil* yang dihasilkan oleh *A. niger* yang dicampur dengan suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) (tidak disimpan di lemari pendingin atau segar) selama 8 jam menghasilkan penghambatan konidia patogen tertinggi (76,08 %) dan berbeda nyata dengan waktu inkubasi 2 jam dan 4 jam, tetapi tidak berbeda nyata dengan waktu inkubasi 0 jam dan 6 jam.

Pengamatan secara kualitatif memperlihatkan bahwa semua kecambah tomat baik pada kontrol (hanya diberi filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*) maupun perlakuan (diberi campuran filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan filtrat *A. niger* pada berbagai konsentrasi) yang diinkubasi selama 30 menit terkolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada hari ke-1, sedangkan yang diinkubasi selama 60 menit semua kecambah tomat pada kontrol (hanya diberi filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*) terkolonisasi patogen pada hari ke-1 tetapi pada perlakuan (diberi campuran filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan filtrat *A. niger* pada berbagai konsentrasi) semua kecambah tomat terkolonisasi patogen pada hari ke-5. Dengan demikian, waktu inkubasi yang diperpanjang selama 30 menit hanya dapat memperlambat 4 hari munculnya kolonisasi patogen pada kecambah tomat.

Waktu inkubasi 30 menit, pemberian agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi dapat meningkatkan perkecambahan tomat yang diberi filtrat atau suspensi konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* masing-masing sebesar 4,17 %, sedangkan waktu inkubasi 60 menit pemberian agen antifungi *non-volatil* dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi dapat meningkatkan perkecambahan tomat sebesar 5,25 % 21,04 % pada tomat yang diberi suspensi konidia patogen tetapi menurunkan perkecambahan tomat sebesar 6,38 % 13,04 % pada tomat yang diberi filtrat patogen.

Agen antifungi *volatil* yang dihasilkan oleh *Penicillium* sp. dapat menurunkan perkecambahan konidia (kepadatan populasi) *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* secara tidak nyata ($p > 0,05$). Populasi patogen pada kontrol sebesar $8-23 \times 10^6$ CFU/ml, sedangkan pada perlakuan $7.7-17.6 \times 10^6$ CFU/ml sehingga dapat menurunkan populasi patogen sebesar 22,07 %. Adanya efek hambatan agen antifungi *volatil* dari *Penicillium* sp. terhadap perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* merupakan kontribusi yang sangat penting karena patogen menginfeksi tanaman tomat melalui perkecambahan konidia yang merupakan langkah awal untuk proses penyakit.

RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Kapang rhizosfer yang telah diidentifikasi adalah isolat bersifat antagonis terhadap *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; seluruhnya termasuk dalam 17 spesies. Kapang rhizosfer yang diisolasi dan telah diidentifikasi adalah *Arthirium* sp. (Teleomorf: *A. montagnei*), *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. tamarii*, *Aspergillus* sp., *F. oxysporum*, *G. butleri*, *H. fuscoatra*, *Mucor* sp., *P. lilacinus*, *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp. 3, *T. leycettanus*, dan *Trichoderma* sp.

Mekanisme antagonis untuk mengendalikan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* terlihat beragam dari tiap spesies kapang rizosfer. Kompetisi dengan kapang patogen terlihat pada *Trichoderma* sp. dan *Mucor* sp. Semua isolat kapang rizosfer memproduksi agen antifungi volatil bukan HCN dan tidak dapat memproduksi enzim kitinase. Kapang rizosfer memproduksi agen antifungi non-volatil iturin yaitu *A. fumigatus*, *A. niger*, dan 2 isolat *Aspergillus* sp. Enzim protease diproduksi oleh *A. fumigatus*, *Aspergillus* sp., *F. oxysporum*, *H. fuscoatra*.

Agen antifungi non-volatil memperlihatkan bahwa koloni *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kontrol berwarna merah mengkudu jambu, sedangkan pada perlakuan berwarna merah indian. Demikian pula pada uji agen antifungi volatil, koloni *F.oxysorum* f.sp. *lycopersici* pada kontrol berwarna merah serah tua, sedangkan pada perlakuan berwarna hartal (Panduan warna Castell-Polychromos No. 9216).

Pemberian agen antifungi non-volatil dari *A. niger* pada suspensi konidia *F.oxysorum* f.sp. *lycopersici* (1 : 1) menunjukkan persentase penghambatan konidia patogen tertinggi pada penyimpanan 4 °C sebesar 77,97 % dan tidak disimpan (27°–29 °C) sebesar 76,08 %, pada pengamatan jam ke-8.

Agen antifungi non-volatil dari *A. niger* pada berbagai konsentrasi dapat meningkatkan perkecambahan benih tomat sebesar 4,17 % pada benih yang

ditambahkan suspensi konidia dan filtrat patogen pada inkubasi 30 menit. Meningkatkan perkecambahan benih tomat sebesar 5,25 % 21,04 % pada benih yang ditambahkan suspensi konidia patogen, dan menurunkan perkecambahan benih tomat sebesar 6,38 % 13,04 % pada benih yang ditambahkan filtrat patogen serta menghambat selama 4 hari kolonisasi *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* pada kecambah benih tomat yang diberi campuran filtrat atau suspensi konidia patogen pada 60 menit inkubasi.

Agen antifungi *volatil* dari *Penicillium* sp. dapat menghambat perkecambahan konidia *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sebesar 22,07 %.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut senyawa yang dihasilkan oleh agen antifungi *volatil* dan *non-volatil* lainnya dari kapang rizosfer. Perlu dilakukan pula penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa antifungi *volatil* dan *non-volatil* yang dihasilkan *A. niger* serta *Penicillium* sp. sehingga dapat diterapkan di lapangan.

DAFTAR ACUAN

- Ando, K., C. Nakhashima, J.Y. Park & M. Otoguro. 2003. Workshop on isolation methods of microbes. 24–26 Juni 2003, Biotechnology-LIPI, Cibinong: 44 hlm.
- Anindyawati, T. 2003. Mikrobia endofit: manfaat dan cara mengisolasinya. *Alam Kita* **12** (1): 11–14.
- Bella, D.K., H.D. Wells & C.R. Markman. 1982. Invitro antagonism of *Trichoderma* spesies against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* **72**: 372–382.
- Campbell, R. 1989. *Plant microbiology*. English Language Book Society, London: iv + 191 hlm.
- Dennis, C. & J. Webster. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* I, production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society* **57**: 25–39.
- Domsch K.H, W. Gams & T.H. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press, London: vii + 859 hlm.
- Eliza, A. Munif, I. Djatnika, & Widodo. 2007. Karakter fisiologis dan peranan antibiosis bacteria perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan pemacu pertumbuhan tanaman pisang. *Jurnal Hortikultura* **17**(2): 150–160.
- Gandjar, I., I.R. Koentjoro, W. Mangunwardoyo & L. Soebagya. 1992. *Pedoman praktikum mikrobiologi dasar*. Jurusan Biologi, FMIPA, UI, Jakarta: vii + 87 hlm.
- Getha, K. & S. Vikineswary. 2002. Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain g10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race-4: indirect evidence for the role of antibiosis in antagonistic process. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **28**: 303–310.
- Hood, M.A. 1991. Comparison of four methods for measuring chitinase activity and application of the 4-MUF assay in aquatic environments. *Journal of Microbiology Methods* **13**: 151–160.

- Ito T., I. Okane, & A. Nakagiri. 1999. Mycoflora of the rizosphere of *Salicornia europaea* L., a halophytic plant. *IFO Research Communication* **19**: 34-40.
- Ito T., A. Nakagiri, M. Tanticharoen & L. Manoch. 2001. Mycobiota of mangrove forest soil in Thailand. *IFO Research Communication* **20**: 50–60.
- Judoamidjojo, M., A.A. Darwis & E.G. Said. 1992. *Teknologi fermentasi*. CV. Rajawali, Jakarta: viii + 333 hlm.
- Karim, V., B. Roux & F. Besson. 2004. Inhibition of *Streptomyces chromofuscus* phospholipase D by antifungal lipopeptides from *Bacillus subtilis*. *Journal of Antibiotics* **57**(8): 535–536.
- Lubis, Z. & T. Lubis. 2008. Kajian komparasi keanekaragaman jamur di rizosfer tanaman pisang (*Musa paradisiaca* var. barangan). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Tinggi* I(2): 9–23.
- Noveriza, R. & Miftakhurohmah. 2010. Efektivitas ekstrak methanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dan daun jeruk purut (*Cytrus hirtus*) sebagai antijamur pada pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Litri* **16**(1): 6–11.
- Olajuyigbe, F.M. & J.O. Ajale. 2005. Production dynamics of extracellular protease from *Bacillus* species. *African Journal of Biotechnology* **4**: 776–779.
- Rao, S. 1994. *Mikroorganisme tanah dan pertumbuhan tanaman*. UI-Press. Jakarta: xi + 353 hlm.
- Sharma, P. 2001. Evaluation of disease control and plant growth promotion potential of biocontrol agents on *Pisum sativum* and comparison of their activity with popular chemical agent-carbendazim. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences* **3**(5): 127–138.
- Sibounnavong, P. 2012. Screening of *Emerella nidulans* for biological control of tomato fusarium wilt in Lao PDR. *Journal of Agricultural Technology* **8**(1): 241–260.

- Skidmore, A.M. & C.H. Dickinson. 1976. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodurum* and phylloplane fungi. *Transaction British Mycological Society* **66**: 57–64.
- Suciatmih. 2006. Mikoflora tanah tanaman pisang dan ubi kayu pada lahan gambut & tanah aluvial di Bengkulu. *Jurnal Biodiversitas* **7**(4): 303-306.
- Susilo, A., S. Santoso & H.A. Tulung. 1993. Sporulasi, viabilitas cendawan *Metarrhizium anisopliae* (Metsc.) Sorokin pada media jagung dan patogenisitasnya terhadap larva *Oryctes rhinoceros*. Prosiding makalah simposium patologi serangga I: 105–106.
- Taufik, M. 2008. Efektivitas agen antagonis *Trichoderma* sp. pada berbagai media tumbuh terhadap penyakit layu tanaman tomat. Prosiding seminar ilmiah dan pertemuan tahunan PEI PFI XIX Komisariat Daerah Sulawesi Selatan: 240–249.
- Wei, G., Klopper, J.W. & S. Tuzun. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Collectotrichum orbiculare* by select strain of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* **81**: 1508–1512.
- Yuliar. 2002. Study on medium compositions to enhance iturin A productivity by *Bacillus subtilis* RB 14–CS. A Master Thesis. The Graduate School of Tokyo Institute of Technology, Tokyo: 59 hlm.
- Zahara, H. & L. Hartati. 2007. Identifikasi jenis cendawan pada tanaman cabai (*Capsicum annum*) pada topografi yang berbeda. Balai Besar Karantina Tumbuhan Belawan 2041 4: 1–8.